

В. А. Беляев, Н. В. Федота, Э. В. Горчаков

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Учебно-методическое пособие

*Допущено Учебно-методическим объединением
высших учебных заведений Российской Федерации
по образованию в области зоотехнии и ветеринарии
в качестве учебно-методического пособия
для студентов высших учебных заведений,
обучающихся по направлению подготовки (специальности)
36.05.01 Ветеринария (квалификация (степень)
«ветеринарный врач»)*

Ставрополь
«АГРУС»
2013

УДК 615.40:54(075.8)

ББК 52.81:24

Б44

Авторы:

доктор ветеринарных наук, профессор кафедры
терапии и фармакологии

В. А. Беляев;

кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры
терапии и фармакологии

Н. В. Федота;

кандидат химических наук, ст. преподаватель кафедры
терапии и фармакологии

Э. В. Горчаков

Рецензенты:

доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии
ГБОУ ВПО Ставропольского государственного медицинского университета,
заслуженный работник Высшей школы

В. С. Никольский;

доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой
ФГАОУ ВПО Северо-Кавказского федерального университета

А. В. Серов

Беляев, В. А.

Б44 Фармацевтическая химия : учебно-методическое пособие /
В. А. Беляев, Н. В. Федота, Э. В. Горчаков. – Ставрополь :
АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2013. – 160 с.

ISBN 978-5-9596-0946-7

Рассмотрены основные положения и правила контроля качества лекарственных средств в процессе их разработки и производства, приводится историческая справка становления фармацевтического контроля, изложены общие принципы оценки качества лекарственных форм и требования к условиям хранения. Рассматриваются основные физико-химические аспекты препаративной фармацевтической химии. Пособие может служить хорошим дополнением к учебникам по фармацевтической химии.

Для студентов ветеринарной и ветеринарно-санитарной специальностей высших учебных заведений.

УДК 615.40:54(075.8)

ББК 52.81:24

ISBN 978-5-9596-0946-7

© ФГБОУ ВПО Ставропольский государственный
аграрный университет, 2013

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	6
1. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ, ОБЪЕКТЫ И ОБЛАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, НОМЕНКЛАТУРА И КЛАССИФИКАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ	7
1.1. Предмет фармацевтической химии, связь с другими дисциплинами	7
1.2. Объекты фармацевтической химии.	9
1.3. Современные наименования лекарственных средств	12
1.4. Методологические основы классификации лекарственных средств	14
1.5. Структура управления и основные направления фармацевтической науки	20
1.6. Современные проблемы фармацевтической химии	22
1.7. Роль аналитических методов в процессе создания и исследования новых ЛВ	30
2. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ И ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ	33
2.1. Краткий исторический очерк развития фармацевтической химии	33
2.2. Развитие фармацевтической химии в России	35
2.3. Развитие фармацевтической химии в СССР	40
2.4. Становление и развитие контрольно-аналитической службы в России	45
2.5. Основные этапы поиска лекарственных веществ	51
2.6. Связь между химической структурой, свойствами веществ и их действием на организм	53
2.7. Предпосылки создания новых лекарственных веществ	58
2.8. Эмпирический и направленный поиск лекарственных веществ	62
3. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА	66
3.1. Специфические особенности фармацевтического анализа	66
3.2. Отбор средней пробы для проведения государственного контроля	67
3.3. Критерии фармацевтического анализа	68
3.4. Физические свойства, используемые для установления подлинности лекарственных веществ	72
3.5. Химические методы установления подлинности	75

3.5.1.	<i>Идентификация неорганических лекарственных веществ</i>	75
3.5.2.	<i>Идентификация элементарноорганических лекарственных веществ</i>	80
3.5.3.2.	<i>Реакции образования солей и комплексных соединений</i>	89
3.5.3.3.	<i>Идентификация органических оснований и их солей</i>	93
3.6.	Способы испытаний на чистоту	94
3.6.1.	<i>Источники и причины недоброкачества лекарственных веществ</i>	94
3.6.2.	<i>Общие требования к испытаниям на чистоту</i>	95
3.6.3.	<i>Общие испытания на примеси неорганических ионов</i>	95
3.6.4.	<i>Обнаружение примеси мышьяка</i>	98
3.6.5.	<i>Определение воды и летучих веществ</i>	99
3.6.6.	<i>Установление pH среды</i>	100
3.6.7.	<i>Испытания на чистоту по физическим и химическим свойствам</i>	101
3.6.8.	<i>Определение золы</i>	102
3.6.9.	<i>Испытание на специфические примеси</i>	102
3.7.	Общие принципы оценки качества лекарственных форм	103
3.7.1.	<i>Классификация лекарственных форм и особенности их анализа</i>	103
3.7.2.	<i>Методы анализа однокомпонентных лекарственных форм</i>	107
3.7.3.	<i>Методы анализа многокомпонентных лекарственных форм</i>	111
3.7.3.1.	<i>Качественный анализ</i>	111
3.7.3.2.	<i>Количественный анализ</i>	112
3.7.3.2.1.	<i>Количественный анализ без разделения компонентов смеси</i>	113
3.7.3.2.2.	<i>Количественный анализ смесей после предварительного разделения компонентов</i>	115
3.8.	Химические методы определения лекарственных веществ	119
3.8.1.	<i>Осадительное титрование</i>	119
3.8.2.	<i>Кислотно-основное титрование (метод нейтрализации)</i>	120
3.8.2.1.	<i>Титрование в водной среде</i>	120
3.8.2.2.	<i>Титрование в смешанных растворителях</i>	122
3.8.2.3.	<i>Титрование в среде неводных растворителей (неводное титрование)</i>	122
3.8.3.	<i>Окислительно-восстановительное титрование</i>	124
3.8.4.	<i>Комплексонометрия</i>	126
3.8.5.	<i>Нитритометрия</i>	127
3.8.6.	<i>Элементный анализ</i>	127
3.8.6.1.	<i>Определение азота в органических соединениях (метод Кьельдаля)</i>	127
3.8.6.2.	<i>Метод сжигания в колбе с кислородом</i>	128
3.9.	Физические и физико-химические методы анализа	129
3.9.1.	<i>Оптические методы</i>	130

3.9.2.	<i>Методы, основанные на поглощении электромагнитного излучения</i>	131
3.9.3.	<i>Методы, основанные на испускании излучения</i>	135
3.9.4.	<i>Методы, основанные на использовании магнитного поля</i>	135
3.9.5.	<i>Электрохимические методы</i>	136
3.9.6.	<i>Термические методы анализа.</i>	138
3.9.7.	<i>Методы разделения</i>	138
3.10.	Биологические и микробиологические методы контроля качества лекарственных веществ	142
3.11.	Валидация методов анализа	145
3.12.	Стандартные образцы	147
4.	СТАБИЛЬНОСТЬ И УСТАНОВКА СРОКОВ ГОДНОСТИ	148
4.1.	Испытания стабильности и установление сроков годности лекарственных средств.	148
4.1.1.	<i>Порядок проведения испытаний</i>	148
4.1.2.	<i>Цели и виды испытаний стабильности</i>	151
4.1.3.	<i>Методы ускоренного определения стабильности лекарственных средств</i>	152
	БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	160

ВВЕДЕНИЕ

Фармацевтическая химия составляет часть фармацевтической науки. В подготовке врача ветеринарной медицины фармацевтическая химия является одной из дисциплин, определяющих профессиональную подготовку специалиста. Непосредственная задача фармацевтической химии заключается в изучении состава и строения лекарственных веществ, влияния особенностей их строения на характер фармакологического действия, физических и химических свойств, разработке способов получения (синтеза) лекарственных веществ, контроля качества, хранения и отпуска лекарственных веществ и лекарственных форм.

Фармацевтическая химия представляет собой науку, связывающую химические и фармацевтические дисциплины, с одной стороны, и медико-биологические дисциплины, с другой. Для тех и других объектом исследования является лекарственное вещество. Фармацевтические и химические дисциплины, преподаваемые в ВУЗе, изучают химию и технологию лекарственных средств, медико-биологические дисциплины – действие лекарственных веществ на организм животных, превращения веществ в организме. Поэтому при изучении фармацевтической химии студент должен интегрировать знания практически всех дисциплин химического, фармацевтического и медико-биологического профиля.

Цель изучения теоретического курса фармацевтической химии заключается в формировании знаний о способах получения (синтеза) лекарственных веществ, взаимосвязи между их химической структурой и действием на организм, методах контроля качества лекарственных средств, изменениях, происходящих с лекарственными средствами в процессе хранения, умений по стандартизации лекарственных средств, организации хранения и отпуска лекарств на основе их физических и химических свойств.

Задачи практического курса: выработать умения, необходимые провизору в организации и осуществлении контроля качества лекарственных средств в соответствии с действующей нормативной документацией (НД).

1. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ, ОБЪЕКТЫ И ОБЛАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, НОМЕНКЛАТУРА И КЛАССИФИКАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

1.1. Предмет фармацевтической химии, связь с другими дисциплинами

Фармацевтическая химия – наука, которая, базируясь на общих законах химических наук, исследует способы получения, строение, физические и химические свойства лекарственных веществ, взаимосвязь между их химической структурой и действием на организм, методы контроля качества и изменения, происходящие при хранении.

Основными методами исследования лекарственных веществ в фармацевтической химии являются анализ и синтез – диалектически тесно связанные между собой процессы, взаимно дополняющие друг друга. Анализ и синтез – мощные средства познания сущности явлений, происходящих в природе.

Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических физических, химических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ.

Чтобы познать фармацевтическую химию, будущий ветеринарный врач должен иметь глубокие знания в области общетеоретических химических и медико-биологических дисциплин, физики, математики. Необходимы также прочные знания в области философии, так как фармацевтическая химия, как и другие химические науки, занимается изучением химической формы движения материи.

Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, управления и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними.

Так, фармакогнозия – наука, изучающая лекарственное растительное сырье и возможности создания из него новых лекарственных веществ. Тесно взаимосвязана фармацевтическая химия с фар-

мацевтической технологией, изучающей методы приготовления лекарственных средств. Они являются объектами для разработки способов фармацевтического анализа. Токсикологическая химия базируется на применении целого ряда тех же методов исследования, что и фармацевтическая химия. В изучении проблем хранения лекарственных средств, а также организации контрольно-аналитической службы тесно связаны с фармацевтической химией организация и экономика фармации. В области исследования взаимосвязи между структурой молекул лекарственных веществ и их действием на организм фармацевтическая химия близко приближается к фармакологии.

Вместе с тем фармацевтическая химия занимает промежуточное положение между комплексом медико-биологических и химических наук. Объектом применения лекарственных средств является организм больного человека. Исследованием происходящих в нем процессов, и лечением занимаются специалисты, работающие в области клинических медицинских наук (терапия, хирургия, акушерство и гинекология и т.д.), а также теоретических медицинских дисциплин: анатомии, физиологии и др. Многообразие применяемых в медицине лекарственных средств требует совместной работы врача и провизора при лечении больного.

Являясь прикладной наукой, фармацевтическая химия базируется на теории и законах таких химических наук, как неорганическая, органическая, аналитическая, физическая, коллоидная химия. В тесной связи с неорганической и органической химией фармацевтическая химия занимается исследованием способов синтеза лекарственных веществ. Поскольку их действие на организм зависит как от химической структуры, так и от физико-химических свойств, фармацевтическая химия использует законы физической химии.

При разработке способов контроля качества лекарственных веществ и лекарственных форм в фармацевтической химии применяют методы аналитической химии. Однако фармацевтический анализ имеет свои специфические особенности и включает три обязательных этапа: установление подлинности, контроль чистоты (установление допустимых пределов примесей) и количественное определение лекарственного вещества.

Развитие фармацевтической химии невозможно и без широкого использования законов таких точных наук, как физика и матема-

тика, так как без них нельзя познать физические методы исследования лекарственных веществ и различные способы расчета, применяемые в фармацевтическом анализе.

1.2. Объекты фармацевтической химии

Объекты фармацевтической химии чрезвычайно разнообразны по химической структуре, фармакологическому действию, по массе, числу компонентов в смесях, наличию примесей и сопутствующих веществ. К числу таких объектов следует отнести:

Лекарственные вещества (ЛВ) – (субстанции) индивидуальные вещества растительного, животного, микробного или синтетического происхождения, обладающие фармакологической активностью. Субстанции предназначены для получения лекарственных средств.

Лекарственные средства (ЛС) – неорганические или органические соединения, обладающие фармакологической активностью, полученные путем синтеза, из растительного сырья, минералов, крови, плазмы крови, органов, тканей человека или животного, а также с применением биологических технологий. К ЛВ также относятся биологически активные вещества (БАВ) синтетического, растительного или животного происхождения, предназначенные для производства или изготовления лекарственных средств.

Лекарственная форма (ЛФ) – придаваемое ЛС или лекарственное растительное сырье (ЛРС) удобное для применения состояние, при котором достигается необходимый лечебный эффект.

Лекарственные препараты (ЛП) – дозированные ЛС в определенной ЛФ, готовые к применению.

Все указанные ЛВ, ЛС, ЛФ и ЛП могут быть как отечественного, так и зарубежного производства, разрешенные для применения в Российской Федерации. Приведенные термины и их аббревиатуры являются официальными. Они внесены в ОСТы и предназначены для использования в фармацевтической практике.

К числу объектов фармацевтической химии относятся также исходные продукты, используемые для получения ЛВ, промежуточные и побочные продукты синтеза, остаточные растворители, вспомогательные и другие вещества. Кроме патентованных ЛС объектами фармацевтического анализа являются *дженерики* (ге-

нерические препараты). На разработанный оригинальный ЛП фармацевтическая компания-производитель получает патент, который подтверждает, что он является собственностью компании на определенный срок (обычно 20 лет). Патент обеспечивает эксклюзивное право на его реализацию без конкуренции со стороны других производителей. После истечения срока действия патента свободное производство и реализация данного ЛП разрешается всем другим компаниям. Он становится дженерическим препаратом или дженериком, но должен быть абсолютно идентичен оригинальному. Разница состоит только в отличии наименования, которое дает компания-производитель. Сравнительная оценка дженерика и оригинального препарата производится по фармацевтической эквивалентности (равное содержание активного ингредиента), биоэквивалентности (равные концентрации накопления при приеме в крови и тканях), терапевтической эквивалентности (одинаковая эффективность и безопасность при введении в равных условиях и дозах). Преимущества дженериков состоят в значительном снижении затрат по сравнению с созданием оригинального ЛП. Однако оценка их качества производится так же, как и соответствующих оригинальных ЛВ.

Объектами фармацевтической химии являются также различные готовые лекарственные средства (ГЛС) заводского и лекарственные формы аптечного изготовления (ЛФ), лекарственное растительное сырье (ЛРС). К их числу относятся таблетки, гранулы, капсулы, порошки, суппозитории, настойки, экстракты, аэрозоли, мази, пластыри, капли глазные, различные инъекционные ЛФ, глазные лекарственные пленки (ГЛП). Содержание указанных и других терминов и понятий приведено в терминологическом словаре данного учебника.

Гомеопатические лекарственные средства представляют собой одно- или многокомпонентные ЛП, содержащие, как правило, микродозы активных соединений, производящихся по специальной технологии и предназначенные для перорального, инъекционного или местного применения в виде различных ЛФ.

Существенная особенность гомеопатического метода лечения состоит в использовании малых и сверхмалых доз ЛС, приготовленных путем ступенчатого последовательного разведения. Это обуславливает специфические особенности технологии и контроля качества гомеопатических препаратов.

Ассортимент гомеопатических ЛС складывается из двух категорий: монокомпонентных и комплексных. Впервые гомеопатические ЛС были включены в Государственный реестр в 1996 г. (в количестве 1192 монопрепаратов). В последующем эта номенклатура расширялась и насчитывает сейчас, кроме 1192 монопрепаратов, 185 отечественных и 261 наименование зарубежных гомеопатических ЛС. В их числе 154 субстанций-настоек матричных, а также различных ЛФ: гранул, таблеток сублингвальных, суппозиториев, мазей, кремов, гелей, капель, растворов для инъекций, драже для рассасывания, оральных растворов, пластырей.

Столь большая номенклатура гомеопатических ЛФ требует высоких требований к их качеству. Поэтому их регистрация проводится в строгом соответствии с требованиями контрольно-разрешительной системы, также как и для аллопатических ЛС с последующей регистрацией в МЗ РФ. Это обеспечивает надежную гарантию эффективности и безопасности гомеопатических ЛС.

Биологически активные добавки (БАД) к пище (нутрицевтики и парафармацевтики) представляют собой концентраты натуральных или идентичных им БАВ, предназначенные для непосредственного приема или введения в состав пищевых продуктов с целью обогащения рациона питания человека. Получают БАД из растительного, животного или минерального сырья, а также химическими и биотехнологическими методами. К числу БАД относятся бактериальные и ферментные препараты, регулирующие микрофлору желудочно-кишечного тракта. БАД производят на предприятиях пищевой, фармацевтической и биотехнологической промышленности в виде экстрактов, настоек, бальзамов, порошков, сухих и жидких концентратов, сиропов, таблеток, капсул и других форм. Реализуют БАД аптеки и магазины диетических продуктов питания. Они не должны содержать сильнодействующих, наркотических и ядовитых веществ, а также ЛРС, не применяемого в медицине и не используемого в питании. Экспертная оценка и гигиеническая сертификация БАД осуществляется в строгом соответствии с положением, утвержденным приказом МЗ РФ от 15 апреля 1997 г. №117 «О порядке экспертизы и гигиенической сертификации биологически активных добавок к пище».

Впервые БАД появились в медицинской практике США в 60-е годы. Вначале они представляли собой комплексы, состоящие из витаминов и минералов. Затем в их состав стали входить различ-

ные компоненты растительного и животного происхождения, экстракты и порошки, в т. ч. экзотических природных продуктов.

При составлении БАДа не везде учитывается химический состав и дозировки компонентов, в особенности солей металлов. Многие из них могут вызывать осложнения. Не всегда в достаточном объеме изучается их эффективность и безопасность. Поэтому в ряде случаев БАДы могут приносить вред вместо пользы, т.к. не учитывается взаимодействие их друг с другом, дозировки, побочное, а иногда даже наркотическое действие. В США с 1993 по 1998 г. зарегистрировано 2621 сообщение о побочных реакциях БАДов, в т. ч. 101 со смертельным исходом. Поэтому принято решение ВОЗ об ужесточении контроля за БАДами и предъявления к их эффективности и безопасности требований, аналогичных критериям качества лекарственных средств.

1.3. Современные наименования лекарственных средств

Лекарственные средства, как правило, имеют по несколько наименований (названий). Число синонимов синтетического органического лекарственного вещества достигает десятков и даже нескольких сотен. Химическое название отражает химическую структуру ЛВ и присваивается в соответствии с правилами международной химической терминологии. Формирование химических и торговых названий ЛВ осуществляется по-разному. Металлы, соли металлов, неорганические кислоты обычно имеют название, соответствующее химической структуре (йод, калия перманганат, натрия гидрокарбонат и др.). Однозначное название, как правило, имеют алкалоиды (пилокарпин, морфин, атропин). Они даются исходя из наименований производящих растений. Аналогично происхождение названий других БАВ растительного и животного происхождения, в т.ч. гликозидов, ферментов, гормонов (инсулин, кортизон, тестостерон). Наименования ЛС из числа антибиотиков происходят от их продуцентов (пенициллин, цефалоспорин). Целый ряд названий синтетических ЛС формируются из слогов их полного химического названия (парацетамол, промедол, хлорпромазин, нифедипин и др.). Нередко название присваивается на основе терапевтического действия (панadol, спазмолитин, апрессин, анальгин и др.). Иногда сочетаются

в названии элементы химического строения и терапевтического действия. Некоторые производители включают в наименование часть названия фирмы.

Одним из важнейших направлений стандартизации ЛС, которые регистрируются в Российской Федерации является правильность присвоения им названий.

Комиссия по международным названиям ВОЗ с целью упорядочения и унификации названий ЛС во всех странах мира разработала международную классификацию, в основу которой заложена определенная система формирования терминологии ЛВ. Принцип этой системы INN – МНН (*International Nonproprietary Names* – международные непатентованные наименования) заключается в том, что в названии ЛВ ориентировочно дается его групповая принадлежность. Это достигается за счет включения в название частей слов, соответствующих фармакотерапевтической группе, к которой относится данное ЛВ.

Решением 46-й Всемирной ассамблеи здравоохранения государства – члены ВОЗ обязаны признавать наименования субстанций, рекомендованных ВОЗ в качестве МНН, и запретить их регистрацию в качестве торговых знаков или торговых наименований. Такой порядок теперь соблюдается и в Российской Федерации.

МНН (INN) для зарубежных ЛС приводятся в принятой за рубежом англо-американской транскрипции – с окончанием на «е» или без него (*Nifedipine*, *Neomycin*) и читаются в соответствии с правилами орфографии английского (может латинского?) языка. В отечественных справочниках, кроме того, дается МНН в переводе на русский язык (нифедипин, неомицин). В научной и справочной современной литературе, а также в нормативной документации (ФС, ФСП) первыми приводятся указанные МНН. Этот же порядок предусмотрен для составления новой Государственной фармакопеи Российской Федерации XII издания.

Многим отечественным ЛВ также присвоено МНН. Однако целый ряд из них имеют традиционную для России латинскую терминологию (*Resorcinum*, *Mentholum*), которая сохранилась в НД. Поэтому при изучении фармацевтической химии будет использована в основном номенклатура МНН, а при ее отсутствии – сохранившиеся латинские названия. В качестве основного синонима будут также приводиться торговые названия, под которыми ЛС зарегистрировано или производится в Российской Федерации.

1.4. Методологические основы классификации лекарственных средств

Количество ЛС в мире непрерывно возрастает. На фармацевтическом рынке в России в настоящее время обращается более 15000 наименований ЛС, что в 2,5 раза больше, чем в 1992 году. Большие трудности для врачей и провизоров создаёт стремление фармацевтических фирм выпустить одни и те же ЛС под разными названиями. Это относится не только к вновь создаваемым, но и к давно известным ЛС, пользующимся большим спросом. Так, например, кислота ацетилсалициловая имеет 439 синонимов, метамизол-натрий – 431, парацетамол – 370, циннаризин – 169, стрептоцид – 150, кислота аскорбиновая – 130, сибазон – 120, анаприлин – 140 и т.д. Запомнить все эти названия и синонимы практически невозможно; вместе с тем нельзя не учитывать, что каждое ЛС может поступать в аптечную сеть под разными «торговыми» названиями. Единой системы составления этих названий пока не существует, однако различные подходы при этом используются.

Классификация огромного арсенала ЛС имеет очень большое значение не только для создания рациональной системы информации о ЛС, но и проведения исследований по созданию новых ЛВ. Любая классификация не может быть постоянной. Создание новых ЛС, прогресс в области фармации и фармакологии требует совершенствования и пересмотра классификации ЛС. По динамике классификации ЛС, существовавшей в разные годы, можно судить о характере изменений, процессе исключения устаревших и включения в номенклатуру новых ЛВ, различных по химическому строению и фармакологическому действию. Проводя анализ номенклатуры ЛВ и их классификации, оценивая диапазон существующих ЛС, насыщенность и эффективность ЛС в каждой фармакологической группе, можно составлять прогнозы о целесообразности пополнения номенклатуры ЛВ в той или иной группе, о создании принципиально новых ЛВ для лечения сердечно-сосудистых, онкологических, инфекционных и других заболеваний.

Существуют два основных типа классификации ЛВ: химическая – по химической структуре и фармакологическая – по характеру действия ЛВ на организм. Каждая из этих классификаций имеет свои положительные стороны и недостатки. Фармакологическая классификация отражает принципы преимущественного

действия ЛВ на ту или иную физиологическую систему (сердечно-сосудистую, центральную нервную и т.д.). Однако в одну и ту же группу при этом попадают ЛВ, различные по химическому строению. Химическая классификация позволяет очень чётко распределить все ЛВ по группам и классам соединений в соответствии с их химической структурой. Но в одной и той же группе могут оказаться ЛВ с различным фармакологическим действием.

Для специалистов, работающих в области фармацевтической химии, более приемлемой является химическая классификация. Она имеет важное значение для проведения исследований в области синтеза, получения ЛВ из растительного и животного сырья, установления связи между их химической структурой и фармакологическим действием, для разработки методов фармацевтического анализа, основанных на различных физических и химических свойствах ЛВ, обусловленных особенностями химической структуры.

Все ЛВ в соответствии с химической классификацией подразделены на две большие группы: неорганические и органические. Неорганические классифицируют в соответствии с положением элементов в Периодической системе Д.И. Менделеева и по основным классам: оксиды, кислоты, гидроксиды, соли, комплексные соединения. Органические ЛВ классифицируют аналогично тому, как это принято в органической химии. При этом используют два классификационных признака: структуру углеродной цепи или цикла и природу функциональной группы. По первому признаку органические ЛВ подразделяют на алифатические (ациклические) и циклические, последние в свою очередь – на карбоциклические и гетероциклические соединения. Карбоциклические соединения объединяют два ряда веществ – *алициклические* и *ароматические*. Органические ЛВ, структура которых включает только атомы углерода и водорода (углеводороды), классифицируют как производные углеводородов, в молекуле которых один или несколько атомов водорода замещены на функциональные группы. По второму классификационному признаку в зависимости от наличия в молекуле той или иной функциональной группы алифатические и ароматические углеводороды подразделяют на галогенопроизводные, спирты, фенолы, простые и сложные эфиры, альдегиды и их производные (имины, оксимы, гидразоны, семикарбазоны, тиосемикарбазоны), кетоны, сульфокислоты, карбоновые кислоты и их

производные (соли, ангидриды, амиды, гидразиды и др.), нитро- и нитрозосоединения, амины, гидразины и азосоединения. Гетероциклические соединения классифицируют по числу атомов, образующих цикл, природе гетероатомов и их количеству, а также по числу гетероциклов или характеру конденсированной системы, включающей гетероциклы и ароматические циклы.

Классификация имеет важное значение для обеспечения машинной обработки при планировании, организации производства и учета, стандартизации, ценообразовании ЛС. Она используется в автоматизированных системах управления в народном хозяйстве, является составной частью Единой системы классификации и кодирования технико-экономической информации. С этой целью разработан 93-й класс Общероссийского классификатора продукции (ОКП) «Медикаменты, химико-фармацевтическая продукция и продукция медицинского назначения». Он введен в действие в РФ с 1 июля 1994 г. Объектами классификации в 93-м классе ОКП являются лекарственные средства, изделия медицинского назначения, полупродукты, вспомогательные вещества.

Разобраться в применении огромного многообразия арсенала современных ЛС может помочь фармакотерапевтическая классификация. *В соответствии с существующими требованиями, ЛС в ней должны распределяться по классам, затем по входящим в каждый из них группам и подгруппам. Каждое ЛС с его основным названием и синонимами должно иметь в подгруппах точную локализацию.* В 1996 году ВОЗ опубликовала предложенный вариант «Анатомо-терапевтическо-химической классификации лекарственных субстанций» (АТХ). По ней все субстанции классифицируются на 14 групп в зависимости от органа или системы, на который они действуют. Каждая группа включает терапевтические и фармакологические, а в некоторых случаях химические подгруппы. Каждая субстанция и лекарственная форма имеет свой буквенный и цифровой индекс.

Таким образом, АТХ представляет собой «банк данных», в котором четко индексировано каждое ЛС.

Широкое признание получила фармакотерапевтическая классификация, разработанная проф. М.Д. Машковским, в наиболее современном виде представленная в последних изданиях «Лекарственные средства». Она помогает установить, к какой группе относится ЛС, является ли оно новым или аналогом существующих,

каковы его синонимы, состав. По этой классификации ЛС распределены по характеру действия на системы, органы, процессы по 13 основным классам. Эти классы разделены на группы, а последнее – на подгруппы, исходя из следующих признаков: основные фармакологические свойства, основные области медицинского применения, сходство в химической структуре. Это даёт представление о существовании связи между химической структурой и фармакологическим действием субстанций. В каждой группе (подгруппе) первыми представлены ЛС – «родоначальники», характеризующие основные черты данной группы. Описание остальных дополняет и развивает представление о группе в целом. Ориентацию в «поток» названий даёт включение, помимо основных названий, большого количества синонимов.

В 1998 году МЗ РФ выпущено официальное четвёртое издание «Государственного реестра лекарственных средств», включающего перечень уникальных номеров (штрих-кодов) ЛС. Реестр и его электронная версия – «Клифар-госреестр» составлен на основании выданных МЗ РФ регистрационных удостоверений, приказов о разрешении к применению, ФС, нормативных документов на зарубежные ЛС. Реестр включает 5551 регистрационный номер на отечественные лекарственные, лечебно-профилактические и диагностические средства, разрешённые к медицинскому применению и промышленному выпуску в России и 7227 – на зарубежные ЛС и средства медицинского назначения, в том числе стандартные образцы, вспомогательные вещества, ЛРС и препараты из них, МИБП, гомеопатические средства, поливитамины, а также лечебно-диагностические (в т.ч. радиоизотопные), медико-профилактические, дезинфекционные, лечебно-профилактические средства, средства для энтерального питания. Наличие электронной версии даёт возможность ежемесячного внесения дополнений и изменений в информацию о регистрации ЛС.

Все дополнения и изменения были учтены при издании в 2001 году очередного издания «Государственного реестра лекарственных средств», номенклатура которого значительно расширена и включает также биологические активные добавки (БАД) к пище. *Информация, приведённая в реестре, служит основной для формирования различных перечней и списков ЛС. В их числе «Перечень жизненно необходимых и важнейших ЛС»,*

списки А и Б, списки безрецептурного и льготного отпуска. Указанные сведения необходимы также при обмене информации по контролю качества и сертификации ЛС. Новое издание Государственного реестра значительно пополнило Единую информационную систему МЗ РФ, которое располагает теперь актуальной, полномасштабной и достоверной базой данных о зарегистрированных ЛС.

Ежегодно в России и за рубежом издаётся большое количество справочников, содержащих информацию о ЛС. Наиболее полным отечественным справочником является «Регистр лекарственных средств России» (РЛС), выдержавший пять изданий. Это – своеобразная национальная энциклопедия ЛС, производимых 335 отечественными и зарубежными фирмами и предприятиями. В основу 5-го издания РЛС положена анатомо-терапевтическо-химическая классификация ЛС. *По терминологическим спискам и классификациям РЛС совместим с Государственным реестром ЛС. РЛС содержит несколько перечней, с помощью которых можно установить торговые названия ЛС, список МНН (на русском языке), перечень производителей, а также указателей: алфавитного, предметного, нозологического по фармако-терапевтическим группам.* В 5-е издание РЛС включены описания на 4050 ЛС.

В последние годы была выпущена целая серия регистров ЛС, в частности: «РЛС – Аптекарь 2000», «РЛС – Доктор 2000», «РЛС – Пациент 2000», а также «Энциклопедия лекарств 2002». Как это следует из названий, каждый такой регистр имеет свой круг пользователей. «РЛС – Аптекарь 2000» – второе переработанное и дополненное издание справочника для провизоров и фармацевтов, содержащее подробное описание ЛС, синонимов, аналогов фармакологического действия, способов применения, а также дозы, ЛФ. В «РЛС – Аптекарь 2000» включено более 1500 индивидуальных ЛВ. Он является ведущим отечественным источником информации о новейших ЛС. «РЛС – Доктор 2000» *выпущен уже третьим изданием. Представляет собой карманный справочник для практикующих врачей. Он содержит сведения о более 1500 современных ЛВ с подробной информацией об их применении.* «РЛС – Пациент 2000» – *новое, не имеющее аналогов иллюстрированное популярное издание для пациентов, описывающее мир ЛС.*

«Энциклопедия лекарств 2002» – первая российская энциклопедия ЛС, подготовленная ведущими фармакологами России. Содержит

жит подробную новейшую информацию об отечественных и зарубежных ЛС, которые продаются в аптеках страны, начиная с 2000 года. Включает описания, химическую структуру ЛС, синонимы и аналоги, а также нозологический указатель, впервые построенный по международной классификации болезней МКБ-10. «РЛС-CD: Энциклопедия лекарств 2002» выполнена на компакт-диске. Это первый российский сертифицированный МЗ РФ электронный справочник о ЛС и их производителях. Он обеспечивает быстрый поиск всеобъемлющей, достоверной и актуальной информации обо всех ЛС, разрешённых к применению в России. Содержит сведения о 1500 ЛВ и содержащих их более, чем 30000 лекарственных форм.

Для достижения структурной и номенклатурной совместимости с международными каталогами – классификаторами ЛС во ВНИИФ разработан и зарегистрирован Госстандартом РФ № 844213 от 24 февраля 1998 года «Классификатор лекарственных средств». Он представляет собой словарь-справочник по номенклатуре отечественных и зарубежных ЛС, участвующих в торговом обороте на фармацевтическом рынке России. Положение о введении классификатора утверждено приказом МЗ РФ №167 от 19 мая 1998 года. Он широко используется в работе Центров фармацевтической информации в различных регионах России.

Создание новых отечественных ЛС, расширение номенклатуры ЛС, закупаемых по импорту, настоятельно требуют определенной их дифференциации и установления степени важности в лекарственной терапии. Эта работа была проведена Межведомственным научным экспертным советом по ЛС в 1989–1991 гг. Ведущими учеными и специалистами проведен экспертный анализ около 3000 наименований ЛС. В результате были выделены наиболее эффективные, имеющие стабильную перспективу дальнейшего использования 784 важнейших ЛС, 149 иммунобиологических препаратов, потребности в которых населения и учреждений здравоохранения должны удовлетворяться полностью. Указанные средства включены в «Перечень жизненно необходимых и важнейших препаратов», который утвержден 3 января 1992 г. МЗ РФ в качестве нормативного документа. Этот перечень систематически пересматривался. В 1998 г., в него были включены 394 ЛС, в 2000 г. около 350 ЛС.

Новый «Перечень жизненно необходимых и важнейших ЛС» был утверждён распоряжением Правительства Российской Феде-

рации от 4 апреля 2002 г. №425-Р. Он включает около 500 ЛС, их номенклатура значительно дополнена и претерпела определённые изменения по сравнению с предыдущими перечнями. Кроме ЛС в перечень включены также вакцины, сыворотки, иммуноглобулины, диагностикумы, тест-системы. Учреждение перечисленных перечней имеет основную цель – улучшить лекарственное обеспечение населения России. Вошедшие в них ЛС должны в первую очередь закупаться для государственных нужд и включаться в нормативные документы, регистрирующие лекарственное обеспечение медицинских учреждений и льготных категорий населения регионов Российской Федерации. Составлен перечень по фармакологической классификации. Все ЛС распределены по 19 фармакотерапевтическим группам. В соответствии с рекомендациями ВОЗ в основу перечня положено международное непатентованное наименование (МНН) лекарственного средства. После названия индивидуального ЛВ приведены важнейшие ЛФ.

1.5. Структура управления и основные направления фармацевтической науки

Научные исследования в области фармации в России проводятся по 4 основным направлениям: организационно-экономические исследования, фармацевтическая технология и биофармация, фармацевтическая химия, изучение лекарственных растений. Эти направления тесно связаны между собой.

Исследования в области фармацевтической химии направлены на изыскание ЛВ синтетического и природного происхождения, разработку методов фармацевтического и биофармацевтического анализа. Основная практическая цель общих проблем фармацевтической химии – создание и обеспечение качества ЛС.

Расширение производства и номенклатуры ЛС, повышение требований к их качеству, необходимость оперативного получения результатов контроля настоятельно требуют использования современных достижений в области химии, физики, математики для развития исследований в области фармацевтического анализа. Причём, результаты этих исследований чрезвычайно важны, не только для теории и практики фармацевтической химии, но совершенно необходимы для дальнейшего развития целого ряда других

фармацевтических наук, т.к. невозможно вести исследования на современном уровне в области технологии лекарств, биофармации, фармакогнозии, фармакокинетики, токсикологической химии без предварительной разработки высокочувствительных, точных, быстровыполнимых, специфичных, экономичных способов анализа ЛВ и ЛФ.

Основным гарантом высокого качества ЛС при серийном производстве, обеспечения их эффективности и безопасности применения является стандартизация. Постоянное пополнение номенклатуры ЛС за счет создания отечественных и зарубежных ЛП, непрерывно возрастающие требования к качеству обуславливают необходимость постоянного совершенствования системы государственной стандартизации. Особо важное значение имеет стандартизация в нашей стране в связи с коренным реформированием экономики, переходом к рыночным отношениям. Выпуском и реализацией ЛС стали заниматься предприятия различных форм собственности, в т.ч. из отраслей, далеких от фармацевтической деятельности; возрастает поток зарубежных ЛП от малоизвестных фирм, недостаточен уровень требований НД к качеству ЛС. Все указанные и другие факторы настоятельно требуют новых подходов к оценке качества ЛС, обеспечивающих их высокую терапевтическую активность и безопасность. Вот почему стандартизация лекарственных средств – это одно из важнейших направлений фармацевтической науки.

В последние годы для подтверждения обоснованности выбора фармакопейного метода определения показателей и норм качества ЛС используется валидация. Она осуществляется при подготовке ФС (ФСП) на новые ЛС. Валидация методов фармацевтического анализа была впервые регламентирована фармакопеей США 24-го издания и Европейской фармакопеей 2000 г. ОФС «Валидация фармакопейных методов» будет включена в очередное издание фармакопеи Российской Федерации. Основная цель валидации – разработка новых, совершенствование и унификация существующих способов контроля качества ЛС на основе выбора оптимальных условий использования аналитического метода для стандартизации ЛВ и ЛФ по каждому разделу НД. Валидации подвергаются методы, применяемые для испытания подлинности, установления пределов содержания примесей, количественного определения: ЛВ в субстанции и в ЛФ, примесей и консервантов в ЛФ.

Таким образом, наряду с созданием новых ЛС не менее важным направлением развития фармацевтической химии является разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих способов контроля качества ЛС на всех этапах разработки, производства и обращения. Созданные на основе современных методов способы анализа ЛС являются основой для установления норм качества и стандартизации, обеспечивающей терапевтическую активность и безопасность ЛС. Перспективным современным направлением является разработка методик анализа ЛВ в биологических объектах, необходимых для проведения биофармацевтических и фармакокинетических исследований, судебно-химической и наркологической экспертизы.

1.6. Современные проблемы фармацевтической химии

Основными проблемами фармацевтической химии являются:

- создание и исследование новых лекарственных средств;
- разработка способов фармацевтического и биофармацевтического анализа.

Создание и исследование новых ЛС. Несмотря на огромный арсенал имеющихся ЛС, проблема изыскания новых высокоэффективных ЛВ остается актуальной.

Роль ЛС непрерывно растет в современной медицине. Это вызвано целым рядом причин, главными из которых являются:

- ряд тяжелых заболеваний не излечивающихся ЛС;
- длительное применение ряда ЛС формирует толерантные патологии, для борьбы с которыми необходимы новые ЛС с иным механизмом действия;
- процессы эволюции микроорганизмов приводят к возникновению новых заболеваний, для лечения которых нужны эффективные ЛС;
- некоторые из применяемых ЛВ вызывают побочные эффекты, в связи с чем необходимо создавать более безопасные ЛС.

Создание каждого нового оригинального ЛВ является результатом развития фундаментальных знаний и достижений медицинских, биологических, химических и других наук, проведения напряженных экспериментальных исследований, вложения крупных матери-

альных затрат. Успехи современной фармакотерапии явились следствием глубоких теоретических исследований первичных механизмов гомеостаза, молекулярных основ патологических процессов, открытия и изучения физиологически активных соединений (гормоны, медиаторы, простагландины и др.). Получению новых химиотерапевтических средств способствовали достижения в изучении первичных механизмов инфекционных процессов и биохимии микроорганизмов. Создание новых ЛВ оказалось возможным на основе достижений в области органической и фармацевтической химии, использования комплекса физико-химических методов, проведения технологических, биотехнологических, биофармацевтических и других исследований синтетических и природных соединений.

Будущее фармацевтической химии связано с запросами медицины и дальнейшим прогрессом исследований во всех указанных направлениях. Это создаст предпосылки для открытия новых направлений фармакотерапии, получения более физиологичных, безвредных ЛС как с помощью химического или микробиологического синтеза, так и путем выделения БАВ из растительного или животного сырья. Приоритетны разработки в области получения инсулина, гормонов роста, препаратов для лечения СПИДа, алкоголизма, получения моноклональных тел. Активные исследования ведутся в области создания новых сердечно-сосудистых, противовоспалительных, диуретических, нейролептических, противоаллергических (антигистаминных) средств, иммуномодуляторов, а также полусинтетических антибиотиков, цефалоспоринов и гибридных антибиотиков. Наиболее перспективно создание ЛВ на основе исследования природных пептидов, полимеров, полисахаридов, гормонов, ферментов и других БАВ. Чрезвычайно важно выявление новых фармакофоров и целенаправленный синтез поколений ЛВ на основе еще не исследованных ароматических и гетероциклических соединений, родственных биологическим системам организма.

Получение новых синтетических ЛВ практически безгранично, так как число синтезируемых соединений возрастает с увеличением их молекулярной массы. Например, количество даже наиболее простейших соединений углерода с водородом с относительной молекулярной массой 412 превышает 4 млрд. веществ.

В последние годы изменился подход к процессу создания и исследования синтетических ЛВ. От чисто эмпирического метода «проб и ошибок» исследователи все больше переходят к ис-

пользованию математических методов планирования и обработки результатов экспериментов, применения современных физико-химических методов. Такой подход открывает широкие возможности прогнозирования вероятных видов биологической активности синтезированных веществ, сокращения сроков создания новых ЛС. В перспективе все большее значение будет приобретать создание и накопление банков данных для ЭВМ, а также использование ЭВМ для установления зависимости между химическим строением и фармакологическим действием синтезируемых веществ. В конечном счете, эти работы должны привести к созданию общей теории направленного конструирования эффективных ЛВ, родственных системам организма человека.

Создание новых ЛС растительного и животного происхождения складывается из таких основных факторов, как поиск новых видов высших растений, исследование органов и тканей животных или других организмов, установление биологической активности содержащихся в них химических веществ.

Немаловажное значение имеют также изучение новых источников получения ЛВ, широкое использование для их производства отходов химической, пищевой, деревообрабатывающей и других отраслей промышленности. Это направление имеет непосредственную связь с экономикой химико-фармацевтической промышленности и будет способствовать снижению стоимости ЛС. Особенно перспективно использование для создания ЛВ современных методов биотехнологии и генной инженерии, которые находят все более широкое применение в химико-фармацевтической промышленности.

Таким образом, современная номенклатура ЛС в различных фармакотерапевтических группах требует дальнейшего расширения. Создаваемые новые ЛС только в том случае являются перспективными, если по своей эффективности и безопасности они превосходят существующие, а по качеству соответствуют мировым требованиям. В решении этой проблемы важная роль принадлежит специалистам в области фармацевтической химии, которая отражает общественно-медицинскую значимость этой науки. Наиболее широко с участием химиков, биотехнологов, фармакологов и клиницистов комплексные исследования в области создания новых высокоэффективных ЛС ведутся в рамках подпрограммы 071 «Создание новых ЛС методами химического и биологического синтеза».

Наряду с традиционными работами по скринингу БАВ, необходимость продолжения которых очевидна, все больший удельный вес приобретают исследования по направленному синтезу новых ЛВ. Такие работы базируются на изучении механизма фармакокинетики и метаболизма ЛС; выявлении роли эндогенных соединений в биохимических процессах, определяющих тот или иной вид физиологической активности; исследования возможных путей ингибирования или активации ферментных систем. Важнейшей основой создания новых ЛС является модификация молекул известных ЛВ или природных БАВ, а также эндогенных соединений с учетом их структурных особенностей и, в частности, введение «фармакофорных» групп, разработка пролекарств. При разработке ЛВ необходимо достигать повышения биодоступности и избирательности регулирования продолжительности действия путем создания транспортных систем в организме. Для направленного синтеза необходимо выявлять корреляционную зависимость между химической структурой, физико-химическими свойствами и биологической активностью соединений, используя для конструирования ЛВ компьютерные технологии.

За последние годы существенно изменилась структура заболеваний и эпидемиологическая обстановка. Указанные факторы определили новые направления поиска ЛС. Возникла необходимость расширения номенклатуры ЛП для лечения различных видов сердечно-сосудистых заболеваний (атеросклероз, артериальная гипертензия, ИБС, нарушения сердечного ритма), болезней опорно-двигательного аппарата (артриты, заболевания позвоночника), заболеваний легких (бронхиты, бронхиальная астма). Основным подходом в этом направлении является поиск мягкодействующих ЛС, не вызывающих резких изменений основных функций организма, проявляющих лечебный эффект за счет влияния на метаболические звенья патогенеза болезни.

Основными направлениями поиска новых и модернизации имеющихся ЛС являются:

- синтез биорегуляторов и метаболитов энергетического и пластического обмена;
- выявление потенциальных ЛВ в ходе скрининга новых продуктов химического синтеза;
- синтез соединений с программируемыми свойствами (модифицирование структуры в известных рядах ЛВ, ресинтез природных фитосубстанций, компьютерный поиск БАВ);

- стереоселективный синтез эутомеров и наиболее активных конформаций социально значимых ЛВ.

Разработка способов фармацевтического и биофармацевтического анализа. Решение этой важной проблемы возможно только на основе проведения фундаментальных теоретических исследований физических и химических свойств ЛВ с широким применением современных химических и физико-химических методов. Использование этих методов должно охватывать весь процесс от создания новых ЛВ до контроля качества конечного продукта производства. Необходима также разработка новой и усовершенствованной нормативной документации на ЛВ и ЛФ, отражающей требования к их качеству и обеспечивающей стандартизацию.

На основе научного анализа методом экспертных оценок выявлены наиболее перспективные направления исследований в области фармацевтического анализа. Важное место в этих исследованиях будут занимать работы по повышению точности анализа, его специфичности и чувствительности, стремление анализировать очень малые количества ЛВ, в том числе в одной дозе, а также выполнять анализ автоматически и в короткие сроки. Несомненное значение приобретает снижение трудоемкости и повышение экономичности методик анализа. Перспективна разработка унифицированных методик анализа групп ЛВ, объединенных родством химической структуры на основе использования физико-химических методов. Унификация создает большие возможности повышения производительности труда химика-аналитика.

В ближайшие годы сохраняют свое значение химические титриметрические методы, имеющие ряд положительных сторон, в частности высокую точность определений. Необходимо также внедрять в фармацевтический анализ такие новые титриметрические методы, как безбюреточное и безиндикаторное титрование, диэлектрометрическое, биамперометрическое и другие типы титрования в сочетании с потенциометрией, в том числе в двухфазных и трехфазных системах.

В химическом анализе в последние годы используют волоконно-оптические сенсоры (без индикаторов, флуоресцентные, хемилюминесцентные, биосенсоры). Они дают возможность дистанционного изучения процессов, позволяют определять концентрацию без нарушения состояния пробы, стоимость их сравнительно невелика. Дальнейшее развитие получают в фармацевтическом анализе кине-

тические методы, отличающиеся высокой чувствительностью, как при испытании чистоты, так и количественном определении.

Трудоемкость и малая точность биологических методов испытаний вызывают необходимость замены их более быстрыми и чувствительными физико-химическими методами. Изучение адекватности биологических и физико-химических способов анализа ЛС, содержащих ферменты, белки, аминокислоты, гормоны, гликозиды, антибиотики – необходимый путь совершенствования фармацевтического анализа. В предстоящие 20–30 лет главенствующую роль займут оптические, электрохимические и особенно современные хроматографические методы, как наиболее полно отвечающие требованиям фармацевтического анализа. *Получат развитие различные модификации этих методов, например разностная спектроскопия типа дифференциальной и производной спектрофотометрии. В области хроматографии наряду с газожидкостной (ГЖХ) все больший приоритет приобретает высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).*

Доброкачественность получаемых ЛВ зависит от степени чистоты исходных продуктов, соблюдения технологического режима и т.д. Поэтому важным направлением исследований в области фармацевтического анализа является разработка способов контроля качества исходных и промежуточных продуктов получения ЛВ (постадийный контроль производства). Это направление вытекает из требований, которые предъявляют к производству ЛС правила GMP. В заводских контрольно-аналитических лабораториях будут развиваться автоматические методы анализа. Значительные возможности в этом отношении открывает использование автоматизированных проточно-инжекционных систем для контроля, а также ГЖХ и ВЭЖХ для серийного контроля ГЛС. Сделан новый шаг на пути полной автоматизации всех операций выполнения анализа, в основе которого лежит использование лабораторных роботов. Робототехника нашла уже широкое использование в зарубежных лабораториях, особенно для осуществления пробоотбора, подготовки проб и других вспомогательных операций.

Дальнейшего совершенствования потребуют способы анализа готовых, в том числе многокомпонентных ЛФ, включая аэрозоли, глазные пленки, многослойные таблетки, спансулы. С этой целью широкое применение получают гибридные методы, основанные на сочетании хроматографии с оптическими, электрохимическими и

другими методами. Не потеряет своего значения экспресс-анализ ЛФ индивидуального изготовления, здесь на смену химическим методам все шире будут приходить физико-химические. Внедрение простых и достаточно точных методик рефрактометрического, интерферометрического, поляриметрического, люминесцентного, фотокolorиметрического анализа и других методов позволяет повысить объективность и ускорить оценку качества ЛФ, изготавливаемых в аптеках. Разработка таких методик приобретает большую актуальность в связи с возникшей в последние годы проблемой борьбы с фальсификацией ЛС. Наряду с законодательными и правовыми нормами совершенно необходимо усиление контроля за качеством ЛС отечественного и зарубежного производства, в т.ч. экспресс-методами.

Чрезвычайно важным направлением является использование различных методов фармацевтического анализа для исследования химических процессов, происходящих при хранении ЛС. Познание этих процессов дает возможность решать такие актуальные проблемы, как стабилизация ЛВ и ЛФ, разработка научно обоснованных условий хранения ЛС. Практическая целесообразность таких исследований подтверждается их экономической значимостью.

В задачу биофармацевтического анализа входит разработка способов определения не только ЛВ, но и их метаболитов в биологических жидкостях и тканях организма. Для решения проблем биофармации и фармакокинетики необходимы точные и чувствительные физико-химические методы анализа ЛВ в биологических тканях и жидкостях. Разработка таких методик входит в круг задач специалистов, работающих в области фармацевтического и токсикологического анализа.

Дальнейшее развитие фармацевтического и биофармацевтического анализа тесно связано с применением математических методов для оптимизации способов контроля качества ЛС. В различных областях фармации уже используют теорию информации, а также такие математические методы, как симплексная оптимизация, линейное, нелинейное, численное программирование, многофакторный эксперимент, теория распознавания образов, различные экспертные системы.

Математические методы планирования эксперимента позволяют формализовать процедуру исследования той или иной системы и получить в итоге ее математическую модель в виде уравнения

регрессии, которое включает все наиболее существенные факторы. В результате достигается оптимизация всего процесса и устанавливается наиболее вероятный механизм его функционирования.

Все чаще современные методы анализа сочетают с применением электронно-вычислительной техники. Это привело к возникновению на стыке аналитической химии и математики новой науки – хемометрики. Она основана на широком использовании методов математической статистики и теории информации, применении ЭВМ на различных стадиях выбора метода анализа, его оптимизации, обработки и интерпретации результатов.

Весьма показательной характеристикой состояния исследований в области фармацевтического анализа является относительная частота применения различных методов. По данным на 2000 год в России наблюдалась тенденция к снижению использования химических методов (7,7%, включая термохимию). Такой же процент использования методов ИК-спектроскопии и УФ-спектрофотометрии. Наибольшее число исследований (54%) выполнено с использованием хроматографических методов, особенно ВЭЖХ (33%). На долю других методов приходится 23% выполненных работ. Практически аналогична ситуация с частотой применения методов анализа ЛС за рубежом. Следовательно, и в России и за рубежом наблюдается стабильная тенденция к расширению использования хроматографических (особенно ВЭЖХ) и абсорбционных методов для совершенствования и унификации методов анализа ЛС.

Сопоставление направленности научных исследований и разработок, проводимых в России и в мировой фармацевтической науке, позволяет сделать заключение, что российские учёные работают над аналогичными проблемами на современном уровне. По некоторым научным проблемам результаты исследований отечественных учёных опережают мировую науку, что подтверждается патентами на изобретения и результатами внедрения в практику.

Наиболее приоритетными научными направлениями в области фармацевтической химии на ближайшие 5-10 лет являются: синтез эффективных БАВ химическими, микробиологическими и генно-инженерными методами; исследование БАВ, содержащихся в растительном и животном сырье, и получение из него ЛС; разработка и совершенствование способов анализа ЛВ с учетом современных требований к их качеству; создание высокоэффективных методик

контроля ЛС с использованием современных физико-химических и биологических методов, которые позволяют повысить качество исследуемых ЛС, обосновать условия хранения и сроки годности; исследования в области стандартизации и совершенствования НД, путем включения новых методик в ФС, ФСП, методические рекомендации для практических работников; разработка и совершенствование способов химико-токсикологического и биофармацевтического анализа.

Таким образом, основу методологии фармацевтической химии составляет комплекс физических, химических, физико-химических, биологических и биофармацевтических методов. Они используются при решении современных проблем фармацевтической химии.

1.7. Роль аналитических методов в процессе создания и исследования новых ЛВ

Анализ играет важную роль на всех этапах создания новых ЛВ. На этапе получения потенциальных ЛВ необходимо выполнение элементного анализа нового соединения, проведение химического и физико-химического анализа для определения функциональных групп. Результаты аналитических исследований используют для установления химической структуры вещества.

На стадии отработки технологического режима синтеза нового ЛВ в условиях лаборатории задача аналитика заключается в разработке способов анализа исходного сырья и промежуточных продуктов синтеза, если на них отсутствуют технические условия или другая НД. Эти исследования служат основой для разработки регламента производства и контроля технологического процесса как на стадии экспериментального, так и серийного производства ЛВ.

Промышленное получение ЛВ – как правило, процесс многостадийный. Он включает подготовку сырья, синтез, выделение, очистку, контроль качества полученного ЛВ. Процесс синтеза имеет ряд особенностей. Исходное сырье, побочные продукты синтеза, полупродукты отдельных стадий могут загрязнять синтезируемое ЛВ. Полупродукты и их примеси сходны по химическому строению между собой и с конечным продуктом. Содержание синтезируемого ЛВ в полупродуктах на разных стадиях синтеза колеблется в очень широких пределах, и во всех случаях анализу подвергают

ся смеси сложного состава. Указанные особенности предъявляют высокие требования к межстадийному аналитическому контролю. Поскольку основная его цель – определение содержания действующего вещества, главным критерием является селективность к нему используемого метода анализа. Важными критериями являются продолжительность анализа, необходимая для выполнения процесса контроля во времени, критерий полноты анализа, учитывающий влияние примесей на его результат. Не менее важны также точность и чувствительность, соответствующие требованиям условий соблюдения технологии проведения процесса, а также критерий, учитывающий миграцию примесей и продуктов их превращения, которые могут повлиять на качество конечного продукта.

Помимо органического синтеза, для получения ЛВ широко используют растительное сырье, органы и ткани убойного скота, микробиологический синтез. С каждым годом увеличивается число ЛВ, получаемых с использованием методов генной инженерии.

Генно-инженерный путь получения ЛВ является главным стратегическим направлением для фармации будущего. Например, р-ДНК-технология имеет огромные потенциальные возможности получения в промышленных условиях нового поколения белковых, гормональных, ферментных препаратов, антибиотиков, вакцин и др. В условиях генно-инженерной технологии необходимо строго соблюдать меры предосторожности и техники безопасности. В случае их нарушения или искажения технологии могут образовываться опасные для организма токсины и другие нежелательные продукты. Вот почему обязательными условиями для ЛВ, получаемых методами генной инженерии, являются более строгие требования к контролю их качества по сравнению с изготавливаемыми обычными методами. При этом необходимо использование современных методов физико-химического анализа. В частности, для контроля чистоты и подлинности используются ВЭЖХ, электрофорез в полиакриламидном геле, изоэлектрическая фокусировка белка. Обязателен строгий контроль пирогенности и токсичности ЛВ с использованием нескольких методов, а также биологический и иммунологический контроль с использованием как природных, так и полученных методами генной инженерии стандартных образцов.

Следующим очень важным этапом аналитических исследований является разработка НД на ЛВ. Здесь также тесно переплетаются

синтез и анализ. Установление критериев оценки подлинности, чистоты, определение количественного содержания ЛВ осуществляется на основе использования физических, химических и физико-химических методов. При выполнении этой работы необходимо, чтобы оценка качества осуществлялась по фармакологически активной части молекулы ЛВ. Очень важно также предусмотреть в НД определение допустимых пределов примесей, которые могут оказать воздействие на фармакологическую активность ЛВ.

Широкие аналитические исследования проводятся на этапе создания готовой лекарственной формы, качество которой зависит от многих параметров. Наряду с отработкой всех технологических операций получения ЛФ готовится ФС или ФСП, которые должны содержать все критерии, необходимые для оценки качества нового ЛС. Работа продолжается на стадии клинической проверки и освоения серийного промышленного производства ЛФ. В процессе этой работы аналитик получает дополнительную информацию, которую учитывают при окончательной отработке НД.

На основе использования аналитических методов устанавливают оптимальный состав ингредиентов, стабильность ЛФ, оптимальные сроки ее хранения. Биофармацевтическая оценка ЛФ также осуществляется на основе применения различных химических и физико-химических методов анализа.

Фармакокинетические исследования могут быть проведены только после разработки методик анализа ЛВ в биологических жидкостях (крови, моче). Вот почему все более широкое развитие приобретает биофармацевтический анализ при проведении исследований новых ЛС.

Различные этапы исследования потенциальных ЛС в соответствии с современными Правилами организации производства и контроля качества лекарственных средств (GMP) требуют привлечения определенного набора физических, химических и физико-химических методов. На этапе синтеза новых соединений и изучения их фармакологической активности с помощью физических и химических методов устанавливают физико-химические константы и степень чистоты. При переходе к доклиническим и клиническим испытаниям происходит формирование НД. На этом этапе для испытаний подлинности используют качественный функциональный анализ, определение температуры плавления, а также методы УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии. Для контроля степени чистоты применяют хро-

матографические (ТСХ, ГЖХ, ВЭЖХ) и химические методы. Для количественного определения биологически активного вещества используют титриметрические методы, УФ-спектрофотометрию, ГЖХ, ВЭЖХ и другие методы. Биофармацевтические и фармакокинетические исследования требуют применения высокочувствительных методов (УФ-спектрофотометрия, флуориметрия, масс-спектрометрия, радиохимические методы). Этап перехода к промышленному производству сопровождается адаптацией разработанных методик оценки доброкачественности к условиям фармацевтического предприятия и проверки стабильности основных показателей качества на опытно-промышленных сериях ЛС.

Таким образом, аналитические методы широко применяются на всех стадиях разработки новых ЛС, включая синтетические, технологические, биофармацевтические, фармакокинетические исследования. Разработка НД на ЛВ и ЛФ – это итог аналитических исследований, связанных с созданием ЛС. Руководствуясь НД, провизор-аналитик осуществляет затем систематический контроль за качеством ЛС как в процессе их производства, так и при поступлении на аптечные базы (склады) и в аптеки.

2. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ И ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

2.1. Краткий исторический очерк развития фармацевтической химии

Создание и развитие фармацевтической химии тесно связаны с историей фармации. Фармация зародилась в глубокой древности и оказала огромное влияние на формирование медицины, химии и других наук.

История фармации представляет собой самостоятельную дисциплину, которая изучается отдельно. Чтобы понять, как и почему зародилась фармацевтическая химия в недрах фармации, как про-

исходил процесс становления ее в самостоятельную науку, кратко рассмотрим отдельные этапы развития фармации, начиная с периода иатрохимии.

Период иатрохимии (XVI–XVII вв.). В эпоху возрождения на смену алхимии пришла иатрохимия (лечебная химия). Ее основатель Парацельс (1493–1541) считал, что «не добыванию золота, а защите здоровья должна служить химия». Сущность учения Парацельса основывалась на том, что организм человека представляет совокупность химических веществ и недостаток какого-либо из них может вызвать заболевание. Поэтому для исцеления Парацельс применял химические соединения различных металлов (ртути, свинца, меди, железа, сурьмы, мышьяка и др.), а также извлечения из растений.

Парацельс провел исследование действия на организм многих веществ минерального и растительного происхождения. Он усовершенствовал ряд приборов и аппаратов для выполнения анализа. Вот почему Парацельса по праву считают одним из основоположников фармацевтического анализа, а иатрохимию – периодом зарождения фармацевтической химии.

Аптеки в XVI–XVII вв. были своеобразными центрами по изучению химических веществ. В них получали и исследовали вещества минерального, растительного и животного происхождения. Здесь был открыт целый ряд новых соединений, изучены свойства и превращения различных металлов. Это позволило накопить ценные химические знания, совершенствовать химический эксперимент. За 100 лет развития иатрохимии наука обогатилась большим количеством фактов, чем алхимия за 1000 лет.

Период зарождения первых химических теорий (XVII–XIX вв.). Для развития промышленного производства в этот период необходимо было расширить рамки химических исследований за пределы иатрохимии. Это привело к созданию первых химических производств и к формированию химической науки.

Вторая половина XVII в. – период зарождения первой химической теории – теории флогистона. С ее помощью пытались доказать, что процессы горения и окисления сопровождаются выделением особого вещества – «флогистона». Теорию флогистона создали И. Бехер (1635–1682) и Г. Шталь (1660–1734). Несмотря на некоторые ошибочные положения, она, несомненно, была прогрессивной и способствовала развитию химической науки.

В борьбе со сторонниками флогистонной теории возникла кислородная теория, которая явилась могучим толчком в развитии химической мысли. Наш великий соотечественник М.В. Ломоносов (1711–1765) одним из первых ученых в мире доказал несостоятельность теории флогистона. Несмотря на то, что еще не был известен кислород, М.В. Ломоносов экспериментально показал в 1756 г., что в процессе горения и окисления происходит не разложение, а присоединение веществом «частиц» воздуха. Аналогичные результаты спустя 18 лет в 1774 г. получил французский ученый А.Лавуазье.

Кислород впервые выделил шведский ученый-фармацевт К. Шееле (1742–1786), заслугой которого также было открытие хлора, глицерина, ряда органических кислот и других веществ.

Вторая половина XVIII в. была периодом бурного развития химии. Большой вклад в прогресс химической науки внесли фармацевты, которыми сделан ряд замечательных открытий, имеющих важное значение, как для фармации, так и для химии. Так, французский фармацевт Л. Воклен (1763–1829) открыл новые элементы – хром, бериллий. Фармацевт Б. Куртуа (1777–1836) обнаружил йод в морских водорослях. В 1807 г. французский фармацевт Сеген выделил морфин из опиума, а его соотечественники Пельтье и Кавенту впервые получили из растительного сырья стрихнин, бруцин и другие алкалоиды.

Многое сделал для развития фармацевтического анализа аптекарь Мор (1806–1879). Он впервые применил бюретки, пипетки, аптечные весы, которые носят его имя.

Таким образом, фармацевтическая химия, зародившаяся в период иатрохимии в XVI в., получила свое дальнейшее развитие в XVII–XVIII вв.

2.2. Развитие фармацевтической химии в России

Истоки русской фармации. Возникновение фармации в России связано с широким развитием народной медицины и знахарства. До наших дней сохранились рукописные «лечебники» и «травники». В них содержатся сведения о многочисленных ЛС растительного и животного мира. Первыми ячейками аптечного дела на Руси были зелейные лавки (XIII–XV вв.). К этому же периоду следует отнести

возникновение фармацевтического анализа, так как появилась необходимость в проверке качества ЛС. Русские аптеки в XVI–XVII вв. являлись своеобразными лабораториями по изготовлению не только ЛВ, но и кислот (серной и азотной), квасцов, купоросов, очистке серы и т.д. Следовательно, аптеки были местом зарождения фармацевтической химии.

Идеи алхимиков были чужды России, здесь сразу начало развиваться подлинное ремесло по изготовлению ЛВ. Приготовлением и контролем качества ЛС в аптеках занимались алхимики (термин «алхимист» не имеет ничего общего с алхимией).

Подготовка кадров фармацевтов осуществлялась открытой в 1706 г. в Москве первой медицинской школой. Одной из специальных дисциплин в ней была фармацевтическая химия. Многие русские химики получили образование в этой школе.

Подлинное развитие химической и фармацевтической науки в России связано с именем М.В. Ломоносова. По инициативе М.В. Ломоносова в 1748 г. была создана первая научная химическая лаборатория, а в 1755 г. открыт первый русский университет. Вместе с Академией наук это были центры русской науки, в том числе химической и фармацевтической.

Одним из многочисленных преемников М.В. Ломоносова был аптекарский ученик, а затем крупный русский ученый Т.Е. Ловиц (1757–1804). Он впервые открыл адсорбционную способность угля и применил его для очистки воды, спирта, винной кислоты; разработал способы получения абсолютного спирта, уксусной кислоты, виноградного сахара. Среди многочисленных работ Т.Е. Ловица непосредственное отношение к фармацевтической химии имеет разработка микрокристаллоскопического метода анализа (1798).

Достоинным преемником М.В. Ломоносова был крупнейший русский ученый-химик В.М. Севергин (1765–1826). Среди многочисленных его работ наибольшее значение для фармации имеют две книги, изданные в 1800 г.: «Способ испытывать чистоту и неподложность химических произведений лекарственных» и «Способ испытывать минеральные воды». Обе книги являются первыми отечественными руководствами в области исследования и анализа ЛВ. Автор глубоко научно отбирает для исследования ЛВ только наиболее точные и доступные методы анализа. Предложенный В.М. Севергиным порядок и план исследования ЛВ мало изменился и используется сейчас при составлении Государственных

фармакопей. В.М. Севергин создал научную основу не только фармацевтического, но и химического анализа в нашей стране.

«Энциклопедией фармацевтических знаний» по праву называют труды русского ученого А.П. Нелюбина (1785–1858). Он впервые сформулировал научные основы фармации, выполнил ряд прикладных исследований в области фармацевтической химии; усовершенствовал способы получения солей хинина, создал приборы для получения эфира и для испытания мышьяка. А.П. Нелюбин провел широкие химические исследования кавказских минеральных вод.

До 40-х годов XIX в. в России было немало ученых-химиков, внесших своими трудами большой вклад в развитие фармацевтической химии. Однако работали они разрозненно, почти не существовало химических лабораторий, не было оборудования и научных химических школ.

Первые химические школы и создание новых химических теорий в России. Первые русские химические школы, основателями которых были А.А. Воскресенский (1809–1880) и Н.Н. Зинин (1812–1880), сыграли важную роль в подготовке кадров, в создании лабораторий, оказали большое влияние на развитие химических наук, в том числе и фармацевтической химии. А.А. Воскресенский выполнил со своими учениками ряд исследований, имеющих непосредственное отношение к фармации. Ими выделен алкалоид теобромин, проведены исследования химической структуры хинина. Выдающимся открытием Н.Н. Зинина была классическая реакция превращения ароматических нитросоединений в аминоксоединения.

Д.И. Менделеев писал, что А.А. Воскресенский и Н.Н. Зинин являются «основателями самостоятельного развития химических знаний в России». Мировую известность принесли России их достойные преемники Д.И. Менделеев и А.М. Бутлеров.

Д.И. Менделеев (1834–1907) является создателем Периодического закона и Периодической системы элементов. Огромное значение Периодического закона для всех химических наук общеизвестно, но он содержит и глубокий философский смысл, так как показывает, что все элементы образуют единую связанную общей закономерностью систему. В своей многогранной научной деятельности Д.И. Менделеев уделял внимание и фармации. Еще в 1892 г. он писал о необходимости «устройства в России заводов

и лабораторий для производства фармацевтических и гигиенических препаратов» с целью освобождения от импорта.

Работы А.М. Бутлерова также способствовали развитию фармацевтической химии. А.М. Бутлеров (1828–1886) получил в 1859 г. гексаметиленetetрамин, изучая строение хинина, открыл хинолин. Он синтезировал сахаристые вещества из формальдегида. Однако мировую славу ему принесло создание (1861) теории строения органических соединений.

Периодическая система элементов Д.И. Менделеева и теория строения органических соединений А.М. Бутлерова оказали решающее влияние на развитие химической науки и ее связь с производством.

Исследования в области химиотерапии и химии природных веществ. В конце XIX в. в России были проведены широкие исследования природных веществ. Еще в 1880 г. задолго до работ польского ученого Функа русский врач Н.И. Лунин высказал предположение о наличии в пище кроме белка, жира, сахара «веществ, незаменимых для питания». Он экспериментально доказал существование этих веществ, которые позже были названы витаминами.

В 1890 г. в Казани была издана книга Е. Шацкого «Учение о растительных алкалоидах, глюкозидах и птоминах». В ней рассматриваются алкалоиды, известные к тому времени, в соответствии с их классификацией по производящим растениям. Описаны способы экстракции алкалоидов из растительного сырья, в том числе аппарат, предложенный Е. Шацким.

В 1897 г. в Петербурге была опубликована монография К. Рябинина «Алкалоиды (Химико-физиологические очерки)». Во введении автор указывает о насущной необходимости «иметь на русском языке такое сочинение об алкалоидах, которое при небольшом объеме давало бы точное, существенное и всестороннее понятие об их свойствах». Монография имеет небольшое введение с описанием общих сведений о химических свойствах алкалоидов, а также разделы, в которых приведены суммарные формулы, физические и химические свойства, реактивы, используемые для идентификации, а также сведения о применении 28 алкалоидов.

Химиотерапия возникла на рубеже XX в. в связи с бурным развитием медицины, биологии и химии. Свой вклад в ее развитие внесли как отечественные, так и зарубежные ученые. Один из

создателей химиотерапии – русский врач Д.Л. Романовский. Он сформулировал в 1891 г. и подтвердил экспериментально основы этой науки, указав, что нужно искать «вещество», которое при введении в заболевший организм окажет наименьший вред последнему и вызовет наибольшее деструктивное действие в патогенном агенте. Это определение сохранило свое значение до наших дней.

Широкие исследования в области применения красителей и элементоорганических соединений в качестве лекарственных веществ были проведены немецким ученым П. Эрлихом (1854–1915) в конце XIX в. Им впервые предложен термин «химиотерапия». На основе разработанной П. Эрлихом теории, названной принципом химической вариации, многие, в том числе русские ученые (О.Ю. Магидсон, М.Я. Крафт, М.В. Рубцов, А.М. Григоровский), создали большое число химиотерапевтических средств, обладающих противомаларийным действием.

Создание сульфаниламидных препаратов, положившее начало новой эры в развитии химиотерапии, связано с изучением азокрасителя прontosила, открытого в поисках ЛВ для лечения бактериальных инфекций (Г. Домагк). Открытие прontosила явилось подтверждением преемственности научных исследований – от красителей к сульфаниламидам.

Современная химиотерапия располагает огромным арсеналом ЛС, среди которых важнейшее место занимают антибиотики. Впервые открытый в 1928 г. англичанином А.Флемингом антибиотик пенициллин явился родоначальником новых химиотерапевтических средств, эффективных в отношении возбудителей многих заболеваний. Работам А.Флеминга предшествовали исследования русских ученых. В 1872 г. В.А. Манассеин установил отсутствие бактерий в культуральной жидкости при выращивании зеленой плесени (*Penicillium glaucum*). А.Г. Полотебнов экспериментально доказал, что очистка от гноя и заживление раны происходят быстрее, если к ней приложить плесень. Антибиотическое действие плесени было подтверждено в 1904 г. ветеринарным врачом М.Г. Тартаковским в опытах с возбудителем куриной чумы.

Исследование и производство антибиотиков привело к созданию целой отрасли науки и промышленности, совершило революцию в области лекарственной терапии многих заболеваний.

Таким образом, проведенные учеными России в конце XIX в. исследования в области химиотерапии и химии природных веществ заложили основы получения новых эффективных ЛС в последующие годы.

2.3. Развитие фармацевтической химии в СССР

Становление и развитие фармацевтической химии в СССР происходило в первые годы советской власти в тесной связи с химической наукой и производством. Сохранились созданные в России отечественные школы химиков, которые оказали огромное влияние на развитие фармацевтической химии. Достаточно назвать крупные школы химиков-органиков А.Е. Фаворского и Н.Д. Зелинского, исследователя химии терпенов С.С. Наметкина, создателя синтетического каучука С.В. Лебедева, В.И. Вернадского и А.Е. Ферсмана – в области геохимии, Н.С. Курнакова – в области физико-химических методов исследования. Центром науки в стране становится Академия наук СССР (Российская Академия наук – РАН).

Подобно другим прикладным наукам, фармацевтическая химия может развиваться только на основе фундаментальных теоретических исследований, которые велись в научно-исследовательских институтах химического и медико-биологического профиля АН СССР (РАН) и АМН СССР (до сентября 2013 г. РАМН). Ученые академических институтов принимают непосредственное участие и в создании новых ЛВ.

Еще в 30-е годы в лабораториях А.Е. Чичибабина были проведены первые исследования в области химии природных БАВ. Последующее развитие эти исследования нашли в трудах И.Л. Кнунянца. Он вместе с О.Ю. Магидсоном был создателем технологии производства отечественного противомалярийного препарата акрихина, позволившего освободить нашу страну от импорта противомалярийных средств.

Важный вклад в развитие химии ЛС, имеющих гетероциклическую структуру, внес Н.А. Преображенский. Им совместно с сотрудниками разработаны и внедрены в производство новые методы получения витаминов А, Е, РР, осуществлен синтез пилокарпина, проведены исследования коферментов, липидов и других БАВ.

Большое влияние на развитие исследований в области химии гетероциклических соединений и аминокислот оказал В.М. Родионов. Он был одним из основателей отечественной промышленности тонкого органического синтеза и химико-фармацевтической промышленности.

Существенный вклад в развитие фармацевтической химии внесли исследования школы А.П. Орехова в области химии алкалоидов. Под его руководством разработаны методы выделения, очистки и определения химической структуры многих алкалоидов, которые затем нашли применение в качестве ЛВ.

По инициативе М.М. Шемякина создан Институт химии природных соединений. Здесь ведутся фундаментальные исследования в области химии антибиотиков, пептидов, белков, нуклеотидов, липидов, ферментов, углеводов, стероидных гормонов. На этой основе созданы и создаются новые ЛВ. В институте заложены теоретические основы новой науки – биоорганической химии.

Тесные узы связывают Институт органической химии РАН с исследованиями в области фармацевтической химии. В годы Великой Отечественной войны здесь были созданы такие ЛС, как бальзам Шостаковского, фенамин, а позже промедол, поливинилпирролидон и др. Исследования, проведенные в институте в области химии ацетилена, позволили разработать новые способы синтеза витаминов А и Е, а реакции синтеза производных пиридина легли в основу новых путей получения витамина В₆ и его аналогов. Проведены работы в области синтеза противотуберкулезных антибиотиков и изучения механизма их действия.

Широкое развитие получили исследования в области элементоорганических соединений, проводимые в лабораториях А.Н. Несмеянова, А.Е. Арбузова и Б.А. Арбузова, М.И. Кабачника, И.Л. Кнунянца. Эти исследования явились теоретической основой создания новых лекарственных препаратов, представляющих собой элементоорганические соединения фтора, фосфора, железа и других элементов.

Развитию фармацевтической химии в немалой степени способствовали также достижения отечественной медицинской и биологической наук. Огромное влияние оказали работы школы великого русского физиолога И.П. Павлова, работы А.Н. Баха и А.В. Палладина в области биологической химии и т.д. В Институте биохимии им. А.Н. Баха под руководством В.Н. Букина осуществлена раз-

работка методов промышленного микробиологического синтеза витаминов B_{12} , B_{15} и др.

Проводимые в институтах РАН фундаментальные исследования в области химии и биологии создают теоретическую основу для разработки направленного синтеза ЛВ. *Особенно важны исследования в области молекулярной биологии, которая дает химическое истолкование механизма биологических процессов, происходящих в организме, в том числе и под воздействием ЛВ.*

Большой вклад в создание новых ЛВ вносят научно-исследовательские институты РАМН. Широкие синтетические и фармакологические исследования ведут институты РАН совместно с Институтом фармакологии РАМН. Такое содружество позволило осуществить разработку теоретических основ направленного синтеза ряда ЛВ. Ученые химики-синтетики (Н.В. Хромов-Борисов, Н.К. Кочетков), микробиологи (З.В. Ермольева, Г.Ф. Гаузе и др.), фармакологи (С.В. Аничков, В.В. Закусов, М.Д. Машковский, Г.Н. Першин и др.) создали оригинальные ЛВ.

На основе фундаментальных исследований в области химических и медико-биологических наук развивалась в нашей стране и стала самостоятельной отраслью фармацевтическая химия. Уже в первые годы советской власти были созданы научно-исследовательские институты фармацевтического профиля.

В 1920 г. в Москве был открыт Научно-исследовательский химико-фармацевтический институт, который в 1937 г. переименован во ВНИХФИ им. С. Орджоникидзе. Несколько позже такие институты (НИХФИ) созданы в Харькове (1920), Тбилиси (1932), Ленинграде (1930). В 70-е годы образован НИХФИ в Новокузнецке для оказания научно-технической помощи химико-фармацевтическим предприятиям Сибири.

ВНИХФИ – один из крупнейших научных центров в области синтеза новых ЛС. Силами ученых этого института была решена йодная проблема в нашей стране (О.Ю. Магидсон, А.Г. Байчиков и др.), разработаны способы получения оригинальных противомалярийных препаратов, сульфаниламидов (О.Ю. Магидсон, М.В. Рубцов и др.), противотуберкулезных средств (С.И. Сергиевская), мышьякорганических препаратов (Г.А. Кирхгоф, М.Я. Крафт и др.), стероидных гормональных препаратов (В.И. Максимов, Н.Н. Суворов и др.), проведены крупные исследования в области химии алкалоидов (А.П. Орехов). Сейчас этот институт носит на-

звание «Центр химии лекарственных средств» – ВНИХФИ им. С.Орджоникидзе. Здесь сосредоточены высококвалифицированные научные кадры, осуществляющие создание и внедрение в практику работы химико-фармацевтических предприятий новых ЛВ в Российской Федерации.

В Харьковском научно-исследовательском химико-фармацевтическом институте (ХНИХФИ) ведутся исследования в области создания новых ЛС из растений, содержащих алкалоиды и гликозиды, совершенствуются и разрабатываются технологические процессы производства различных ГЛС (ампулированных растворов, таблеток, аэрозолей и др.). Затем институт был переименован во Всесоюзный научно-исследовательский институт химии и технологии лекарственных средств (ВНИИХТЛС). В настоящее время ВНИИХТЛС преобразован в Государственный научный центр лекарственных средств (ГНЦЛС) Государственного комитета Украины по химической, нефтехимической промышленности и медицинским препаратам (Госхимпром Украины).

В 2010 году исполнилось 80 лет Всероссийскому институту лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) (сейчас входит в структуру РАН), здесь решаются проблемы изучения лекарственной флоры и создания из ЛРС новых ЛС. На основе исследования растительного сырья в институте было разработано более 100 ЛС. Из них зарегистрировано в МЗ РФ и внедрено в медицинскую практику 71 ЛС в виде 94 ЛФ. Среди них индивидуальные ЛВ или сумма веществ, лекарственные сборы, отдельные растения. Созданные ЛС относятся к различным фармакотерапевтическим группам, в т.ч. обладающие сердечно-сосудистым, нейротропным, противовирусным, противовоспалительным, антибактериальным, ранозаживляющим, бронхолитическим действием, регуляторы функции ЖКТ и мочеполовой сферы, иммуномодуляторы. Актуальным направлением в деятельности ВИЛАРа является разработка биологически активных добавок (БАД) на основе растительного сырья, обладающих общеукрепляющим и мягким тонизирующим действием.

Открытая в 1928 г. в Москве Центральная аптечная научно-исследовательская лаборатория (ЦАНИЛ) в 1944 г. реорганизована в Центральный аптечный научно-исследовательский институт (ЦАНИИ). В 1976 г. ЦАНИИ переименован во ВНИИФ – Всесоюзный научно-исследовательский институт фармации, затем

в Научно-исследовательский институт фармации Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Уже в первые годы после создания в нашей стране фармацевтических научных учреждений и учебных заведений систематические исследования в области фармацевтического анализа начали проводить во ВНИХФИ (А.К. Руженцева и др.), в ЦАНИИ (Н.И. Горяинова, Б.А. Клячкина и др.). Большой вклад в разработку методов анализа ЛВ внесли П.Л. Сенов и его многочисленные ученики, разработавшие новые способы химического контроля ЛФ. Н.А. Валяшко является пионером в области спектрофотометрических исследований ЛВ, которые продолжил В.И. Близнюков. Я.А. Филалков посвятил свои работы изучению химических методов анализа ЛВ. Все эти исследования получили свое дальнейшее развитие на кафедрах фармацевтической химии Московской медицинской академии, Санкт-Петербургской химико-фармацевтической академии, Пятигорской и Пермской фармацевтических академий, а также других медицинских фармацевтических факультетов высшей школы.

Для улучшения контроля качества лекарств был создан в 1976 г. Государственный научно-исследовательский институт по стандартизации и контролю лекарственных средств (ГНИИСКЛС). Институт осуществляет фундаментальные и прикладные исследования по проблеме «Стандартизация лекарственных средств», в том числе разработку стандартных образцов (СО) и нормативной документации (НД) на ЛС, разработку методов контроля качества и изучение физико-химических и биологических свойств ЛВ. В 1999 г. ГНИИСКЛС был реорганизован в два НИИ: Институт контроля качества лекарственных средств и Институт стандартизации лекарственных средств. Оба они вошли в состав Государственного научного центра экспертизы и контроля лекарственных средств.

Большая работа в области создания и исследования ЛВ на основе синтеза новых органических соединений проводится в научно-исследовательских институтах, изучающих антибиотики (ВНИИА в Москве и НИИ антибиотиков и ферментных препаратов в г. Санкт-Петербурге), в созданном в 1936 г. Всесоюзном научно-исследовательском витаминном институте (ВНИВИ) и других отраслевых научно-исследовательских учреждениях МЗ РФ.

Актуальность проблемы создания и исследования новых ЛС привлекла к ее решению Московский, Санкт-Петербургский,

Ростовский и другие университеты нашей страны, химико-технологические, научно-исследовательские институты и учебные заведения. Особенно эффективными оказались проводимые в этом направлении исследования в Российском химико-технологическом университете им. Д.И. Менделеева и в Институте тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова.

Столь большое число научных школ, занимающихся решением данной проблемы, свидетельствует прежде всего о ее актуальности и важности для здравоохранения. Различие профиля указанных научных учреждений подтверждает сложность проблемы создания и исследования ЛС, необходимость проведения широких фундаментальных и прикладных работ в различных областях химии, физики, медицины, фармации.

2.4. Становление и развитие контрольно-аналитической службы в России

Служба контроля качества ЛС в России имеет более чем 200-летнюю историю, которая неразрывно связана со становлением всей системы управления фармацевтической деятельностью. В течение этих лет в России все положения, касающиеся контроля качества ЛС, имели законодательно закреплённую силу и утверждались высшими органами государственной власти. В первой половине XVII века был создан Аптекарский приказ, который осуществлял в числе прочих задач контроль за качеством изготовления ЛС в аптеках. В 1784 г. Указом Сената было введено требование обязательной экспертизы новых ЛС. Сенат выдавал разрешения на их реализацию. Дальнейшее развитие система обеспечения качества ЛС в России получила с изданием первого Аптекарского Устава 1789 г., 8 из 23 параграфов которого были посвящены вопросам контроля качества ЛС. Этим же Уставом впервые в России был утвержден реестр разрешенных к применению ЛС. Реестр в дальнейшем ежегодно пересматривался Министерством Внутренних дел, в ведении которого находилось фармацевтическое законодательство.

В становлении государственного контроля качества ЛС в России важную роль сыграло законодательное принятие Сенатом в 1807 г. заключения о специфическом характере фармацевтической

деятельности. Суть его состояла в том, что торговля лекарствами отличается от всех прочих видов торговли и должна находиться под ближайшим надзором правительства.

Во втором издании Аптекарского Устава (1836 г.) требования к условиям обеспечения качества ЛС были расширены и направлены на соблюдение условий правильного хранения ЛС в аптеках. В 1892 г. вопросы контроля качества ЛС включены в Устав врачебный. В нём закреплялась обязательность представления данных о составе нового ЛС Медицинскому Совету, который оценивал его эффективность и устанавливал область применения. Уставом были определены критерии разрешения к медицинскому применению новых ЛС: оригинальность, преимущество по эффективности действия.

В конце XIX – начале XX веков в России в связи с расширением промышленного производства ЛС были разработаны и утверждены «Правила об условиях, порядке разрешения и об устройстве фабрик, лабораторий и особых отделений химических заводов для изготовления сложных фармацевтических препаратов». В них регламентированы требования к условиям производства ЛС. Они во многом сходны с современными требованиями, предъявляемыми при лицензировании.

Качество ввозимых зарубежных ЛС контролировалось в соответствии с «Правилами для пропуска заграничных лекарств», которые также во многом напоминают современные требования. При разрешении ввоза ЛС допускалось их освобождение от химического исследования в том случае, если заявитель представлял акт химического анализа ввозимого ЛС, выполненного таким русским или иностранным учреждением, компетентность которого признана Медицинским Советом. В случае изменения дозы и вида ЛФ требовалось новое ходатайство с описанием состава и технологии получения и с приложением анализа, произведенным компетентной лабораторией.

Таким образом, система государственного контроля качества лекарств в России имела чёткую законодательную основу и была ориентирована, прежде всего, на надзор за соблюдением условий изготовления и контроля качества лекарств.

В связи с изменением социально-экономических условий в России после 1917 года произошла полная реорганизация системы аптечной службы и государственного контроля качества лекарств.

В первые годы Советской власти (декабрь 1918 года) было подписано постановление Народного Комиссариата здравоохранения РСФСР «О национализированных аптеках, аптечных предприятиях, об организации управления ими и органах, их снабжающих». Общее руководство аптечной службой страны, включая надзорные и контрольные функции, возлагалось этим постановлением на Фармацевтический отдел Наркомздрава (НКЗ).

В начале 1919 г. на Первом Всероссийском съезде фармацевтических подотделов медико-санитарных отделов областных и уездных Советов рабочих, крестьянских и красноармейских депутатов были определены задачи аптечной службы страны. В соответствии с ними была введена в аптеках должность контролера проверки правильности изготовления ЛС ассистентами. Организация контрольно-аналитической службы аптечных управлений началась с создания в 1923 г. контрольно-аналитических лабораторий в Москве, Ленинграде, Свердловске, а затем и в других городах. Продажа отечественных и зарубежных ЛС допускалась только после предварительного химического анализа в контрольно-аналитических лабораториях. Выход в свет в 1926 г. первой советской фармакопеи создал необходимую научную основу организации контроля качества лекарств. Начиная с 1929 г. КАНЛ вменено в обязанность проведение выборочного контроля качества ЛС, изготовленных в аптеках.

Большое внимание улучшению контрольно-аналитической службы было уделено на проведенном в 1926 г. Всероссийском фармацевтическом совещании. На нем обсуждались итоги работы по созданию государственной системы лекарственного обслуживания населения. В 1926-1927 гг. было завершено формирование системы аптечного дела в СССР утверждением устава, прав и обязанностей аптекоуправлений при отделах здравоохранения. В 1930-1935 гг. созданы республиканские аптечные управления в РСФСР и на Украине, а затем и в других союзных республиках. Координацию их деятельности осуществляла Аптечная инспекция, созданная в 1936 г. при НКЗ.

Большое внимание уделялось контролю качества лекарств в процессе их производства на предприятиях химико-фармацевтической промышленности. Согласно утвержденной приказом ВСНХ СССР от 24.12.25 г. №224 «Инструкции о порядке открытия заводов и лабораторий для производства фармацевтических препаратов»,

управляющий и владельцы предприятия должны были нести ответственность, в т.ч. уголовную, за доброкачественность выпускаемых ЛС и за соответствие их требованиям действующих в СССР фармакопей и другой НД.

В 30-е годы обеспечение качества ЛС промышленного изготовления возлагалось на отделы технического контроля (ОТК) и контрольные лаборатории предприятий. Несмотря на принимаемые меры, на проведенном Аптечной инспекцией НКЗ СССР в 1938 г. совещании по улучшению качества ЛС указывалось на недопустимо высокий уровень брака ЛС как промышленного (до 7,1% серий), так и аптечного (до 27,6%) изготовления. Основными причинами брака ЛС промышленного производства были: отсутствие должного контроля за качеством ЛС; несоблюдение требований технологических процессов производства; антисанитария в содержании помещений, аппаратуры, тары; недоброкачественное сырьё и небрежное отношение к его хранению; недостаточное количество и качество профилактических мероприятий; крайне неблагоприятные условия для работы контрольных лабораторий и ОТК заводов. Характерно, что ряд этих недостатков имеют место и на современных ХФЗ и для их устранения требуется неуклонное соблюдение Правил GMP.

В последующие годы (1936-1940) аптечные управления усиливают внимание к контролю качества лекарств. Во всех областных центрах были созданы КАНЛ в соответствии с приказом НКЗ СССР от 3 марта 1939 г. К концу 1937 г. в стране их имелось 188. Это дало возможность расширить сферу деятельности КАНЛ и проводить выборочную ежемесячную контрольную проверку лекарств, приготовленных в аптеках. В 1938 г. по решению НКЗ в аптеках начинают создаваться контрольно-аналитические кабинеты и столы. К началу 1941 г. в стране имелось 295 КАНЛ и 1133 контрольно-аналитических кабинетов и столов. Наряду с увеличением числа подразделений контрольно-аналитической службы в стране большое внимание уделялось улучшению качества их работы. КАНЛ к этому времени стали организационно-методическими центрами контрольно-аналитической службы. Были определены виды внутриаптечного контроля качества ЛС, которые совершенствуются и не теряют своего значения в настоящее время.

Учитывая высокий процент брака, НКЗ СССР пересмотрел задачи и методы работы контрольно-аналитической службы. В 1939 году

НКЗ СССР утвердил «Инструкцию о внутриаптечном контроле», предусматривающую профилактический, опросный, органолептический, физический и, по мере надобности, качественный химический анализ. Управление химико-фармацевтической промышленности обязало предприятия при отправке товаров прилагать копии анализов с заключением ОТК заводов. В 1939 г. НКЗ утвердил положение о КАНЛ, контрольно-аналитических кабинетах при аптеках, инструкцию по оценке качества ЛС, изготавливаемых в аптеках. В результате принятых мер уже в 1940 г. удельный вес неудовлетворительно приготовленных лекарств снизился до 1%.

Война нанесла огромный урон здравоохранению и аптечной системе страны. Было уничтожено большое число аптек, аналитических лабораторий и других аптечных учреждений, вдвое сократилось число фармацевтов. Огромные задачи стояли перед аптечными работниками по восстановлению системы бесперебойного обслуживания населения лекарствами.

В 1945 г. Аптечная инспекция была реорганизована в Главное аптечное управление (ГАПУ) Наркомздрава СССР. Несмотря на трудности послевоенного периода, уже к 1946 г. число аптек превысило довоенный уровень, было восстановлено большинство разрушенных КАНЛ. Увеличившееся в годы Великой Отечественной войны количество фармацевтических фабрик при аптечных управлениях обусловило необходимость совершенствования системы контроля качества выпускаемых ими ЛС. В связи с этим было пересмотрено положение об ОТК на этих предприятиях, в котором конкретизированы функции и значительно расширены права ОТК.

В 1951 г. ГАПУ Минздрава СССР обязало КАНЛ контролировать качество всех ЛС, поступающих на аптечные склады, независимо от наличия результатов заводского анализа. Через 5 лет был введен дифференцированный режим контроля качества ЛС, который был несколько изменен в 1963 г. Он предусматривал обязательный посерийный контроль всех новых ЛС, поступающих на аптечные склады от предприятий в течение двух лет с момента освоения их промышленного выпуска; ядовитых ЛС, растворов в ампулах и флаконах для инъекций, остальные проверялись выборочно. Введение данного порядка способствовало активизации работы КАНЛ по контролю качества ЛС промышленного производства.

Вопросы контроля качества ЛС всегда находились и находятся в центре внимания деятельности правительства страны. До 1962

г. в Советском Союзе государственный контроль качества ЛС был возложен на Инспекцию по контролю за качеством медицинской продукции (Инспекция), которая являлась подразделением Управления лекарственных средств и медицинской техники с инспекцией по качеству МЗ СССР. Инспекция осуществляла контроль за качеством медицинской продукции, выпускаемой отечественными предприятиями, а также получаемой по импорту и отправляемой по экспорту. Постановлением Совета Министров СССР от 14.05.62 г. №438 Инспекция была реорганизована в Государственную инспекцию по контролю за качеством лекарственных средств и изделий медицинской техники МЗ СССР, которой были подчинены Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля лекарственных средств (ГНИИСКЛС) и КАНЛ аптечных управлений.

Просуществовавшая до начала 90-х годов государственная система контроля качества ЛС осуществлялась на общесоюзном (предварительный и последующий контроль), региональном (на аптечных базах), территориальном – республиканском, краевом, областном (на аптечных складах) и учрежденческом (в аптеках) уровнях. Система была ведомственного характера, функционировала в условиях централизованного распределения ЛС и предусматривала контроль их качества на всех этапах. Все синтетические ЛВ, антибиотики, витамины и препараты из животного и растительного сырья, выпускаемые промышленными предприятиями любых ведомств, подлежали государственному контролю качества в ГНИИСКЛС.

Контроль качества импортных ЛС отличался от порядка контроля качества отечественных ЛС. Предварительный контроль проходили поступившие на центральные базы ГАПУ МЗ СССР первые три серии впервые закупленных ЛС. Объём последующего контроля дифференцировался по группам ЛС (по всем показателям НД, на стерильность и пирогенность выборочно). При поступлении на аптечные склады от транзитных баз импортные ЛС подлежали посерийной проверке внешнего вида, приведённого в НД.

Контрольно-аналитические лаборатории осуществляли контроль качества ЛС, изготавливаемых в аптеках, аптечных пунктах 1 группы, выпускаемых фармацевтическими фабриками и поступающих на аптечные склады от промышленных предприятий, а также организационно-методическое руководство

деятельностью аптечных учреждений и предприятий в части контроля качества ЛС.

Вопросы контроля качества лекарств с каждым годом приобретают все большее значение. Они всегда находились и находятся в центре внимания деятельности аптечных учреждений. В СССР существовали республиканские, областные и городские лаборатории, а также лаборатории на аптечных складах и фармацевтических фабриках. Большинство из них сохранилось как в России, так и в странах ближнего зарубежья.

Таким образом, к началу 90-х годов в России сформирована принципиально новая система государственного управления качеством ЛС, призванная обеспечивать эффективность и безопасность ЛС в условиях рыночных отношений. Правовые основы этой системы отрегулированы в федеральном законе «О лекарственных средствах».

В последующие до конца XX века годы, пройдя длительный путь развития, претерпев неоднократные изменения, в России сложилась и действует единая многоуровневая служба контроля качества ЛС. В целях совершенствования системы регистрации и усиления контроля за качеством отечественных и импортных ЛС в Российской Федерации была создана контрольно-разрешительная система обеспечения качества ЛС, утвержденная приказом Минздрава России от 02.09.93 г. №211. Контролирующие функции выполняются на региональном уровне 165 территориальными КАНЛ и центрами контроля качества лекарственных средств (ЦККЛ).

2.5. Основные этапы поиска лекарственных веществ

Поиск новых БАВ связан с огромной наукоемкой работой, длительностью разработки технологии производства, сложностью медико-биологических испытаний и требует больших затрат.

Разработка нового ЛВ включает следующие стадии.

1. Замысел создания нового ЛВ. Он возникает обычно в результате совместной работы ученых двух специальностей: фармакологов и химиков-синтетиков. Уже на этой стадии осуществляется предварительный отбор синтезированных соединений, которые, по мнению специалистов, могут быть потенциально биологически активными веществами.

2. Синтез предварительно отобранных структур. На этой стадии также осуществляется отбор, в результате которого вещества, отличающиеся нестабильностью, невозможностью или чрезмерной трудоемкостью синтеза, дороговизной исходных веществ и т.д., не подвергаются дальнейшему исследованию.

3. Фармакологический скрининг и доклинические испытания. Основной этап, во время которого отсеиваются неперспективные вещества, синтезированные на предыдущем этапе.

4. Клиническая проверка. Ее выполняют только для перспективных БАВ, которые прошли все этапы фармакологического скрининга.

5. Разработка технологии производства нового ЛВ и наиболее рациональной ЛФ.

6. Подготовка нормативной документации, включающей способы контроля качества как самого ЛВ, так и его ЛФ.

7. Внедрение ЛВ в промышленное производство и отработка всех стадий его получения в заводских условиях.

Все эти этапы поиска и освоения производства нового ЛВ тесно связаны между собой. Каждый новый ЛП является итогом совместной работы химиков-специалистов в области синтеза и анализа, а также биологов, биохимиков, технологов, фармакологов и клиницистов. Нередко в этой работе участвует несколько научных учреждений различного профиля.

Испытания биологической активности химических соединений последовательно ведутся на самых разных уровнях: молекулярном, клеточном, субклеточном, на уровне тканей и органов животных, а также целостного организма. Новый ЛП должен обязательно иметь преимущества перед существующими и выдерживать необходимые требования в отношении токсичности, канцерогенности, тератогенности и других показателей безвредности. Все испытания выполняют на подопытных животных.

Важную роль в доклиническом изучении потенциальных ЛВ занимают биофармацевтические исследования. Последние дают возможность установить механизм воздействия ЛВ на организм, рекомендовать рациональные ЛФ и схемы их применения в клинике. Терапевтическая ценность нового ЛВ окончательно оценивается в процессе клинических испытаний. Проводятся они в клиниках и научно-исследовательских институтах медицинского профиля. По результатам клинических испытаний делается заключение о це-

лесообразности применения ЛП в медицинской практике. На ЛП, прошедший клинические испытания, готовится регламент производства, отражающий технологию проведения и аналитический контроль каждой стадии получения ЛВ и ЛФ. Кроме того, разрабатывается ФС (ФСП) на субстанцию – конечный продукт производства.

Предпосылками для создания нового ЛВ являются накопленные теоретические и эмпирические представления о характере связи между структурой, физическими свойствами и фармакологической активностью химических соединений. Современные исследователи, говоря о существовании связи «структура – активность», понимают под структурой комплекс физических и химических свойств, обусловленных строением молекулы изучаемого соединения.

2.6. Связь между химической структурой, свойствами веществ и их действием на организм

Установление зависимости между химическим строением и действием вещества на организм имеет огромное значение в широком биологическом плане. Решение этой проблемы позволило бы осуществлять целенаправленный синтез ЛВ, обладающих заданным фармакологическим действием. Идея о наличии связи между химической структурой органических соединений и их биологической активностью была впервые высказана еще в 1869 г. Однако, несмотря на более чем вековой труд ученых многих поколений, к настоящему времени удалось установить лишь некоторые закономерности.

На многочисленных примерах показано, что ненасыщенные соединения более фармакологически активны, чем насыщенные. Введение галогенов усиливает фармакологическую активность алифатических и ароматических соединений, причем как активность, так и токсичность зависят от числа атомов галогена. Хлор- и бромпроизводные оказывают наркотическое действие и снижают кровяное давление. Иодпроизводные менее активны, но имеют более выраженное антисептическое действие.

Влияние кислорода находится в зависимости от функциональной группы, в состав которой он входит. Введение в молекулу вещества спиртового гидроксила, альдегидной и кетогрупп повышает

ет фармакологический эффект. Карбоксильная группа снижает активность и токсичность («облагораживает» действие) и улучшает растворимость. Это относится как к алифатическим, так и к ароматическим соединениям. Большое влияние на активность и токсичность органических соединений оказывает процесс ацилирования. Он может привести к полному изменению фармакологической активности и токсичности исходных спиртов, аминов, фенолов.

Введение нитрогруппы в молекулу приводит к усилению влияния на продолговатый мозг. Алифатические сложные эфиры азотной кислоты и нитропроизводные оказывают сосудорасширяющее действие. Наличие в молекуле аминогруппы резко повышает токсичность. Соединения типа аммиака раздражают нервные центры и гладкую мускулатуру, вызывают спазмы и судороги. Присоединение метильных групп к атому азота дает различные эффекты. При введении их в молекулу аммиака или при алкилировании атомов водорода в аминогруппе, гидроксильной, карбоксильной группировках происходит почти всегда снижение физиологической активности или выраженное ее изменение. Существует значительное различие между влиянием этильной и метильной групп, введенных в молекулу.

Введение в молекулу алифатических радикалов, разветвление их цепей приводит к изменениям в действии веществ на организм. Длина цепи алифатического радикала, вводимого в молекулу, — один из важных факторов, влияющих на активность и токсичность веществ. Обычно нарастание эффекта происходит при удлинении алифатической цепи до шести атомов углерода.

Значительно меньше исследован вопрос о направленности и силе действия веществ, содержащих две (или более) функциональные группы. Некоторые данные по этому вопросу получены на примере ароматических соединений. Токсичность анилина заметно снижается при введении фенольного гидроксила. Например, *n*-аминофенол и особенно его производные менее токсичны, чем анилин. В значительной мере уменьшается токсичность анилина при введении карбоксильной группы. *o*- и *n*-аминобензойные кислоты не имеют ядовитых свойств анилина. Здесь сказывается «облагораживающее» влияние карбоксильной группы. Значительно снижается токсичность анилина в результате ацетилирования.

Большое значение имеет установление связи между фармакологической активностью и стереохимией молекул органических

соединений. На примере ряда гетероциклических соединений установлено, что фармакологический эффект зависит как от самой гетероциклической системы, так и от относительной ориентации в ней различных заместителей. Замена атома углерода в ароматической или гетероциклической системе на гетероатомы, увеличение числа звеньев цикла, удлинение или разветвление алифатической цепи, присоединенной к гетероциклической системе, вызывают стереохимические изменения в молекуле. Последние могут привести к появлению геометрических, оптических и других изомеров, которые в свою очередь вызывают изменение фармакологического действия.

Исследованиями последних лет установлено наличие взаимосвязи между пространственной структурой веществ, их растворимостью в воде и в липидах, оптической активностью, с одной стороны, и биологическим действием – с другой. Например, такие простые вещества, как двухатомные фенолы, отличаются по своей токсичности. Наименее токсичен из них *мета*-изомер (резорцин). Биологическое действие зависит от *цис-транс*-изомерии, *трео-эритро*-изомерии и оптической изомерии.

Оптические изомеры, обладая одинаковым химическим строением и физическими свойствами, исключая лишь направление вращения плоскости поляризованного луча, имеют разную биологическую активность, причем иногда даже противоположную. Чаще всего один из энантиомеров, называемый эутомером, имеет выраженную фармакологическую активность одного вида, а другой энантиомер – дистомер – не активен. В качестве примеров можно привести ЛВ, имеющие в молекуле асимметрический атом углерода. Более высокой биологической активностью обладают левовращающие изомеры (гиосциамин в 40 раз, адреналин в 17 раз, тироксин в 4 раза активнее правовращающих антиподов). В других случаях (стероиды, антибиотики) активнее правовращающие изомеры, значительно реже (камфора) оптическая изомерия не влияет на фармакологическую активность.

Нередко наблюдается одновременное воздействие различных типов изомерии на фармакологический эффект. Так, из нескольких изомеров пилокарпина наибольшим фармакологическим эффектом обладает правовращающий *цис*-изомер, а у левомецетина активен только левовращающий *D-трео*-изомер.

Химическая структура молекулы является далеко не единственным фактором, влияющим на фармакологическую активность

БАВ. Даже если выбрана оптимальная химическая структура, важно, чтобы ЛВ могло быть перенесено к месту действия и поставлено в условия, необходимые для взаимодействия с биологическим субстратом. Для этой цели нужно, чтобы оно обладало комплексом физических и химических свойств, обеспечивающих распределение вещества в организме.

Биологическая активность данного соединения, или, точнее, биологический ответ организма на это соединение, зависит от суммы очень большого числа факторов: проницаемости вещества через липидный слой, транспорта, процессов адсорбции, ионизации, комплексообразования, метаболизма и др.

Физические или химические свойства вещества являются функцией его химического строения. Вместе с тем механизм первичной фармакологической реакции сводится к взаимодействию между клеткой и молекулой ЛВ.

Биологический ответ организма на ЛВ прежде всего зависит от такого физического свойства, как растворимость. Растворимость обуславливает распределение вещества в организме и во многом определяет фармакокинетические свойства ЛВ. Растворимость оказывает существенное влияние на проникновение ЛВ из кишечника в кровь, т.е. на такие процессы, как всасывание, фильтрация, диффузия и др.

Не менее важное значение имеет растворимость ЛВ в липидах. Наряду с растворимостью существенную роль играет коэффициент распределения ЛВ между водой и липидами. Этот фактор обуславливает проникновение ЛВ через мембраны к клеткам тканей. *Влияние растворимости и коэффициента распределения обусловлено двумя возможными путями проникновения молекул ЛВ в клетки. Один из них – проникновение молекул водорастворимых веществ и ионов через субмикроскопические (диаметром 0,7–1 нм) заполненные водой поры, пронизывающие протоплазму. Второй путь – растворение ЛВ в липидах, которые входят в состав протоплазмы, особенно ее поверхностного слоя. По этому пути осуществляется транспорт ЛВ, нерастворимых в воде, но растворимых в липидах.*

По современным представлениям, фармакологическая активность многих ЛВ в значительной степени обусловлена блокированием функции ионных каналов в биомембранах. В грубом приближении взаимодействие молекулы ЛВ с каналом биомембраны

может быть представлено как перенос его молекулы (или ее части) из водной среды в органическую фазу. Последнюю представляет собой канальная система. *Представления о ионных каналах как молекулярных мишенях для ЛВ, а также относительной гидрофобности внутренней полости ионных каналов по сравнению с окружающей полярной средой позволяют коррелировать соотношение «структура–активность» для данного класса органических молекул. Это дает возможность предсказать эффективность данной группы соединений и вести направленный синтез БАВ, а также исследовать их влияние на организм.*

Скорость всасывания ЛВ зависит также от pH среды. Изменяя pH среды при пероральном введении ЛС, можно увеличивать или уменьшать число недиссоциированных молекул и таким образом усиливать или ослаблять процесс проникновения ЛВ в клетку.

Молекулярная масса является одним из факторов, влияющих на фармакологическую активность. Полимеры в зависимости от молекулярной массы нередко настолько меняют свое фармакологическое действие, что оно становится противоположным действию исходных мономеров.

При установлении зависимости между физико-химическими характеристиками и биологической активностью важное значение имеют параметры, определяющие фармакодинамические свойства ЛВ. К их числу относятся те, которые обуславливают его движение в межклеточной жидкости и проникновение через мембраны (липофильность, гидрофобность, растворимость). Все они прямо или косвенно зависят в растворах от такой фундаментальной характеристики, как поверхностное натяжение. *Существенное влияние поверхностного натяжения обусловлено тем, что оно имеет своей основой некомпенсированное взаимодействие между молекулами жидкости, образующими ее поверхностный и ближайший к нему слой.* Необходимо отметить, что каждый из рассмотренных факторов сам по себе не является определяющим в фармакологическом действии ЛВ. Они находятся во взаимосвязи между собой и в зависимости от химической структуры и других параметров. Установление такой связи в той или иной группе органических соединений требует колоссальной работы, связанной с синтезом и исследованием фармакологического действия многих сотен и тысяч соединений. В каждой из групп химических соединений существует определенная взаимосвязь между химическим строе-

нием, свойствами и фармакологическим действием. Многообразие факторов, влияющих на фармакологический эффект, усложняет процесс изыскания новых ЛВ. Тем не менее современные методы исследования позволили определить предпосылки решения этой важной проблемы.

2.7. Предпосылки создания новых лекарственных веществ

Изыскание новых ЛВ осуществляют различными путями. Ведущим направлением являются исследования в области модификации структуры известных природных БАВ. Одним из классических примеров этого направления может служить создание целого ряда синтетических местно-анестезирующих средств производных *n*-аминобензойной кислоты (анестезин, новокаин, дикаин) на основе глубокого исследования химической структуры природного алкалоида – кокаина. Таким путем были синтезированы оригинальные ЛС, имеющие гетероциклическую структуру. Примером может служить ряд антимикробных средств производных 5-нитрофурана, «родоначальником» которых был фурацилин. Проведение этих и аналогичных исследований базировалось на предварительном установлении связи: химическая структура – свойство – активность.

За последние годы в этом направлении стали наблюдаться некоторые тенденции, которые носят характер общих закономерностей. Так, например, при создании ЛВ, механизм действия которых обусловлен их взаимодействием с биохимическими рецепторами, важным является неизменность в молекуле расстояний между реакционными центрами, которые отвечают за взаимодействие с активными участками рецепторов. Задача исследователя состоит в том, чтобы, варьируя химической структурой молекулы и ее пространственными характеристиками, сохранить указанные расстояния и тем самым усилить реакционную способность этих центров.

Наряду с исследованием зависимости между химической структурой и фармакологическим действием немаловажное значение имеет и изучение метаболизма ЛВ в организме. Метаболизм определяет такие важные свойства ЛВ, как токсичность, побочные эффекты, продолжительность действия. Метаболизму подвергается подавляющее большинство ЛВ. Как правило, они инактивиру-

ются, значительно реже происходит их активация или изменение характера действия.

Возможность создания ЛВ, не образующих метаболитов, мало перспективна, так как практически все ксенобиотики изменяются в организме. Поэтому при конструировании наиболее реальным является получение так называемых «мягких» ЛВ, т.е. структурных аналогов уже известных ЛС с предсказуемым метаболическим превращением, в результате которого образуются нетоксичные метаболиты.

Одним из направлений поиска новых ЛВ являются химическая модификация уже известных лекарств и получение пролекарств. Это создает большие потенциальные возможности в усилении активности, снятии побочных явлений, повышении стабильности ЛС. Впервые на это указал в 1958 г. Альберт, который ввел специальный термин «лекарства-предшественники» (пролекарства). К ним отнесены ЛВ, проявляющие фармакологическую активность после того, как они были подвергнуты в организме химическим или метаболическим (ферментативным) превращениям. Исследования таких веществ – активных метаболитов – дают возможность создавать новые ЛВ. Главное условие при этом – необходимость оптимальной скорости превращения предшественника в активный метаболит и проявление достаточной фармакологической активности. Установлены некоторые закономерности, которые используются в осуществлении этой цели. При создании новых ЛВ чаще всего требуется повысить активность, иногда же, наоборот, целесообразно замедлить абсорбцию лекарственного вещества (сульфаниламиды). В ряде случаев, например при создании противоопухолевых средств, необходимо, чтобы ЛВ действовало только по отношению к нужному органу или ткани. Пролонгированного действия можно добиться, если лекарство-предшественник будет (ак)кумулироваться в жировой ткани. Для увеличения продолжительности действия применяют также этерификацию (спиртов и кислот). Алкильные эфиры спиртов устойчивы к действию кислот и щелочей. Иногда превращение в эфиры значительно изменяет физико-химические и биофармацевтические свойства (пенициллины).

Одним из способов получения лекарств-предшественников является присоединение к активной форме группы носителя через различные формы связи (ионная, ковалентная, комплексная, водо-

родная). Носителем может быть сахароза (сердечные гликозиды). Хорошим носителем является пировиноградная кислота, так как это физиологический компонент, и ее освобождение безвредно для организма.

Создаются «контейнерные» ЛВ с использованием, например, макроциклов. При этом известные ЛВ соединяют с ионоформными фрагментами, которые способствуют проникновению через биологические мембраны. Так синтезированы «контейнерные» препараты феназепам. Большой интерес проявляется к пептидам, позволяющим получить лекарства-предшественники, включающие фрагменты аминокислот.

Установлен ряд признаков, позволяющих предсказать возможность появления у данного вещества активного метаболита. Например, большая активность ЛВ при пероральном введении, чем при парентеральном, отсутствие исходного вещества в организме во время проявления действия и др. Можно также предсказать наличие фармакологической активности у метаболита, например, если он ее проявляет при любом пути введения в организм.

Ряд лекарств-предшественников проявляет фармакологическое действие до того, как метаболизируются, и после этого. Это послужило основой для создания лекарств-предшественников, которые, попадая в организм, последовательно проявляют вначале один, а затем другой фармакологический эффект.

Свои особенности имеет процесс конструирования ЛВ в том случае, когда механизм действия связан с их участием в метаболизме путем изменения или блокады ферментативных процессов. При этом, варьируя химической структурой, стремятся сохранить общий объем молекулы, чтобы обеспечить возможность ее взаимодействия с ферментами. В таких случаях меняют характер распределения электронной плотности в молекуле, реакционную способность отдельных ее участков, вводят или удаляют реакционные центры, необходимые для нормального течения процессов биохимических превращений, и т.д. Таким образом, исследование метаболитов и лекарств-предшественников – один из перспективных путей создания новых ЛВ.

Важнейшим современным направлением поиска новых ЛВ является исследование эндогенных физиологически активных соединений, т.е. веществ, синтезируемых организмом и принимающих участие в осуществлении процесса жизнедеятельности. Одним из первых таких

веществ стал открыт в 1895 г. гормон адреналин. В настоящее время выделено и идентифицировано большое число эндогенных соединений, представляющих по химической структуре амины, аминокислоты, пептиды, глюкопротеиды, пурины. Они влияют на регуляцию нервных процессов, метаболизма, иммунные реакции, рост тканей и другие жизненные функции. Исследование этих соединений имеет очень большое теоретическое и прикладное значение для различных областей медицинской, химической, фармацевтической науки.

С точки зрения поиска новых ЛС эндогенные соединения представляют интерес в тех случаях, когда проявляют выраженную специфическую фармакологическую активность. Учитывая «родство» по отношению к организму, они не вызывают аллергических реакций, а токсичность, как правило, минимальна. Изучение эндогенных физиологически активных соединений открывает широкий простор для синтеза аналогов, которые обладают улучшенными или измененными свойствами, более высокой эффективностью, избирательностью, специфичностью и т.д.

Ниже приведены некоторые примеры применения эндогенных соединений и их синтетических аналогов в качестве ЛВ, а также перспективы создания новых ЛС.

1. Исследование биосинтеза и физиологических функций адреналина привело к открытию его предшественников в организме – норадреналина и дофамина. Последующее изучение ряда других биогенных веществ – ацетилхолина, аминалона и других эндогенных веществ аминокислот (аспарагиновой, глутаминовой, метионина) – пополнило арсенал большой группой психотропных средств и ноотропных ЛВ (пирацетам).

2. Высокоэффективными ЛС являются эндогенные вещества стероидной и белково-пептидной природы: инсулин, гормоны гипофиза, кора надпочечников, гипоталамус, щитовидная железа, половые гормоны и другие, а также их полусинтетические и синтетические аналоги.

3. Новой группой физиологически активных эндогенных соединений являются простагландины, на основе которых уже созданы эффективные препараты (динопрост, простенон и др.), применяемые в гинекологической практике. Последующее изучение простагландинов показало их широкие возможности для лечения целого ряда других заболеваний (сердечно-сосудистых, легочных, желудочно-кишечных).

4. Исследованные в последние годы эндогенные ферменты (протеолитические, фибринолитические) оказались перспективными для создания на их основе ЛС для лечения сердечно-сосудистых, легочных, нервных и других заболеваний.

5. Новым вкладом в исследование эндогенных веществ явилось открытие в 70-х годах энкефалинов и эндорфинов, представляющих собой нейропептиды и обладающих анальгетической, снотворной, нейролептической, антидепрессивной и другой активностью.

6. Проведенные в последние годы исследования эндогенных иммунорегулирующих факторов привели к созданию ЛВ, модулирующих иммунные процессы. Иммуностимулирующей, противовирусной и противоопухолевой активностью обладают интерфероны, получаемые из донорской крови. Большие перспективы в создании новых ЛВ имеет использование пептидных биорегуляторов – цитомединов. Из тимуса (вилочковой железы) получены препараты – иммуностимуляторы: тимозин, тактивин, тималин, а из костного мозга – β -активин.

Число открываемых эндогенных физиологически активных соединений растет с каждым днем благодаря усилиям ученых различных отраслей науки. Расширяются сведения о спектре их возможной лекарственной активности. *В настоящее время привлекали к себе внимание вырабатываемые различными органами и тканями факторы роста, являющиеся веществами белковой или гликопротеиновой природы. Так, например, изучаются в качестве потенциальных лекарственных средств фактор некротизации опухолей, фактор роста нервных клеток и др.*

2.8. Эмпирический и направленный поиск лекарственных веществ

Сложность создания новых высокоэффективных ЛВ обусловлена многообразием факторов, влияющих на фармакологический эффект. Поиск БАВ состоит из двух основных этапов: химического синтеза и установления фармакологической активности полученного соединения. Для каждого из этих этапов требуется перебор множества вариаций химической структуры прототипа, положенного в основу поиска. Такая стратегия поиска связана с большой

затратой времени, реактивов, растворителей и труда, но в конечном счете малоэффективна.

Возможны два направления в создании новых лекарственных веществ: направленный поиск и эмпирический поиск.

Направленный поиск заключается в теоретическом предсказании биологической активности вещества на основе исследования ее связи с химической структурой. Поиск ведется с широким использованием методов математического моделирования и заложенных в ЭВМ банков данных об известных БАВ. Однако современный уровень развития науки не позволяет пока прогнозировать создание новых ЛВ за счет направленной модификации структур веществ. Слишком сложным является характер связи между химической структурой и биологической активностью. Наши знания физиологических и патологических процессов, молекулярных механизмов действия тех или иных функциональных групп еще недостаточны для теоретически обоснованного прогнозирования терапевтической ценности синтезируемых соединений. Иными словами, пока еще не создана общая теория направленного поиска новых ЛВ.

Эмпирический поиск осуществляется классическим методом проб и ошибок. Исходя из эмпирически установленных закономерностей о влиянии тех или иных функциональных групп на биологическую активность, осуществляют синтез ряда соединений. Затем проводят предварительные испытания, отбирают наиболее активные вещества, которые подвергают всестороннему фармакологическому исследованию.

Эмпирический поиск новых ЛС имеет многовековую историю. Еще в глубокой древности были открыты лечебные свойства ряда минералов и растений. Начиная со второй половины XIX в. в связи с развитием синтетической химии эмпирическим путем были установлены сосудорасширяющие свойства амилнитрита, снотворное действие хлоралгидрата, противовоспалительная активность кислоты салициловой, антисептические свойства серебра нитрата и раствора формальдегида и др. С каждым годом расширялось число синтетических ЛВ. Этот процесс происходил не только за счет синтеза новых соединений, но и создания на их основе химической модификации структуры молекул природных и синтетических веществ, фармакологическая активность которых была установлена ранее.

Принцип модификации молекул используется и в настоящее время как один из путей создания новых ЛВ, в том числе полусинтетических аналогов антибиотиков, гормонов, противоопухолевых, сердечно-сосудистых и других средств. Конечно, техника проведения эмпирического поиска в наши дни стала значительно более совершенной. Оценка эффективности проводится не только субъективно, используются многочисленные современные тесты, метод скрининга и другие методы, позволяющие обследовать большое число синтезированных соединений. Однако применение и этих современных методов поиска новых ЛВ не является достаточно результативным. Обычно он приводит к созданию БАВ, являющихся аналогами в известных фармакологических группах. Новые оригинальные ЛВ обнаруживаются при этом очень редко.

К числу эмпирических методов поиска новых ЛВ относится метод скрининга (отсевание) биологически активных соединений из огромного числа синтезируемых или получаемых из природного сырья химических веществ.

Одним из современных вариантов скрининга является многопараметрический функциональный метод, который позволяет одновременно регистрировать на животных показатели функционального состояния различных органов и систем (регистрация артериального давления, температуры, дыхания, сердечного ритма и т.д.). На этой основе осуществляются дифференциация и классификация испытуемых соединений, исключаются непригодные для использования в качестве будущих ЛВ.

Сейчас в ряде крупных научных лабораторий скрининг осуществляется по 60–80 параметрам с использованием современных физико-химических и биологических методов испытаний, результаты которых обрабатываются на ЭВМ. Результаты обработки ЭВМ выдает в такой форме, которая может помочь исследователю найти полезные закономерности и разработать новые подходы к созданию ЛВ.

Однако с каждым годом число синтезируемых веществ все более возрастает. Подвергнуть их скринингу с использованием биологических экспериментов на животных малоэффективно и экономически невыгодно. Поэтому разрабатываются пути совершенствования скрининга на основе использования не только физических, физико-химических, биофизических, биохимических, но и вычислительных методов. В результате созданы новые варианты

применения скрининга, позволяющие отобрать из огромного потока синтезированных веществ те, которые могут проявить биологическую активность и должны быть испытаны на животных. Так, например, метод расчетного скрининга позволяет не только осуществлять отсев малоперспективных соединений, но и на основании изучения математической зависимости между химической структурой и биологическим действием дать рекомендации для направленного синтеза БАВ.

ЛВ, созданные в результате направленной трансформации природных соединений, относят к лекарственным средствам первого поколения. Им на смену приходят лекарственные вещества второго поколения, полученные в результате направленного скрининга, причем стратегия поиска новых ЛВ основана на знании молекулярных механизмов действия химических соединений, а также возникновения, развития и коррекции патологических состояний. ЛВ первого и второго поколения созданы эмпирическим путем. Обобщение и развитие результатов эмпирического подхода послужило основой для разработки будущих теорий направленного поиска ЛВ.

Третье поколение – это рациональное создание структуры ЛВ с учетом гидрофильно-гидрофобных, электронных, пространственных, биохимических и фармакокинетических факторов. Лекарственные вещества четвертого поколения получены на основе математического прогнозирования их химической структуры с использованием накопленного арсенала данных о функциональной зависимости биологической активности от химической структуры. Таким образом, происходил последовательный переход от эмпирического к направленному поиску ЛВ.

По прогнозу зарубежных экономистов, в предстоящее десятилетие резко возрастет число новых ЛС, создаваемых в результате стратегии направленного скрининга активных ингредиентов, причем имеется в виду широкое использование для этой цели ЭВМ, т.е. речь идет о конструировании лекарств.

3. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

3.1. Специфические особенности фармацевтического анализа

Фармацевтический анализ – это наука о химической характеристике и измерении биологически активных веществ на всех этапах производства: от контроля сырья до оценки качества полученного ЛВ, изучения его стабильности, установления сроков годности и стандартизации ЛФ. Фармацевтический анализ имеет свои специфические особенности, отличающие его от других видов анализа. Эти особенности заключаются в том, что анализу подвергают вещества различной химической природы: неорганические, элементарноорганические, радиоактивные, органические соединения от простых алифатических до сложных природных биологически активных веществ. Чрезвычайно широк диапазон концентраций анализируемых веществ. Объектами фармацевтического анализа являются не только индивидуальные ЛВ (субстанции), но и смеси, содержащие различное число компонентов.

Способы фармацевтического анализа нуждаются в систематическом совершенствовании в связи с созданием новых ЛС и непрерывным повышением требований к их качеству. Причем растут требования как к степени чистоты ЛВ, так и к количественному содержанию. Поэтому необходимо широкое использование для оценки качества ЛС не только химических, но и более чувствительных физико-химических методов.

К фармацевтическому анализу предъявляют высокие требования. Он должен быть достаточно специфичен и чувствителен, точен по отношению к нормативам, обусловленным ГФ, ФС и другой НД, выполняться в короткие промежутки времени с использованием минимальных количеств испытуемых ЛС и реактивов.

Фармацевтический анализ в зависимости от поставленных задач включает различные формы контроля качества ЛС: фармакопейный анализ, постадийный контроль производства ЛВ, анализ ЛФ индивидуального изготовления, экспресс-анализ в условиях аптеки и биофармацевтический анализ.

Составной частью фармацевтического анализа является фармакопейный анализ. Он представляет собой совокупность способов

исследования ЛВ и ЛФ, изложенных в Государственной фармакопее или другой нормативной документации. На основании результатов, полученных при выполнении фармакопейного анализа, делается заключение о соответствии ЛС требованиям ГФ (ФС, ФСП). При отклонении от этих требований ЛС к применению не допускают.

Заключение о качестве ЛС можно сделать только на основании анализа пробы (выборки). Порядок ее отбора указан либо в частной ФС, либо в общей статье ГФ XI (вып. 2).

Выполнение фармакопейного анализа позволяет установить подлинность ЛВ, его чистоту, определить количественное содержание фармакологически активного вещества или ингредиентов, входящих в состав ЛФ. Несмотря на то, что каждый из этих этапов имеет свою конкретную цель, их нельзя рассматривать изолированно. Они взаимосвязаны, взаимно дополняют друг друга и отражают комплексный характер оценки качества ЛС. Так, например, температура плавления, растворимость, рН среды водного раствора и т.д. являются критериями как подлинности, так и чистоты ЛВ. Указанные особенности фармакопейного анализа существенно отличают его от норм и требований к методам анализа, используемых в Государственных стандартах (ГОСТ) и технических условиях (ТУ).

В ФС описаны методики соответствующих испытаний применительно к тому или иному фармакопейному ЛС. Многие из этих методик идентичны. В целях унификации способов анализа в ГФ включены общие фармакопейные статьи (ОФС), в которых систематизированы сведения о выполнении испытаний на ряд ионов и функциональных групп, а также единых методов количественного определения. Для обобщения большого объема частных сведений по фармакопейному анализу будут рассмотрены основные критерии фармацевтического анализа и общие принципы испытаний на подлинность, чистоту и количественного определения ЛВ.

3.2. Отбор средней пробы для проведения государственного контроля

При отборе проб (выборок) лекарственных средств руководствуются требованием ГФ XI (вып. 2, с. 15) и требованиями ФС (ФСП).

Пробы (выборки) отбирают из отдельных серий (партий) ЛС после проведения наружного осмотра, только из неповреждённых,

укупоренных и упакованных согласно требованиям НД упаковочных единиц. При отборе проб ядовитых и наркотических ЛС необходимо руководствоваться правилами, предусмотренными соответствующими приказами, положениями, инструкциями, утвержденными Минздравом РФ.

Для проведения испытаний ЛС на соответствие требованиям НД проводят многоступенчатый отбор проб (выборок). При этом пробу образуют по ступеням и ЛС в каждой ступени отбирают случайным образом в пропорциональных количествах из единиц, отобранных в предыдущей ступени. Число ступеней определяется видом упаковки:

1-я ступень: отбор единиц упаковочной тары (ящиков, мешков, коробок и др.);

2-я ступень: отбор упаковочных единиц, находящихся в упаковочной таре (коробок, флаконов, банок и др.);

3-я ступень: отбор продукции в первичной упаковке (ампул, флаконов, туб и др.).

Из отобранных на последней ступени упаковочных единиц после контроля по внешнему виду берут пробу для контроля качества ЛС на соответствие требованиям НД. Количество ЛС должно быть достаточным для проведения 4 полных анализов по всем разделам ФС (ФСП). Порядок отбора проб для контроля ЛС на стерильность, пирогенность, токсичность и другие специальные виды контроля указан в ОФС (ГФ XI, в.2) или ФС (ФСП).

Отбор средней пробы завершается составлением «Акта отбора средней пробы», в котором указывается наименование ЛС, номер серии, общее количество ЛС, количество отобранного ЛС. Акт составляется и подписывается комиссией, в состав которой входит начальник ОТК, представитель КАНЛ (или заказчика).

3.3. Критерии фармацевтического анализа

На различных этапах фармацевтического анализа в зависимости от поставленных задач имеют значение такие критерии, как избирательность, чувствительность, точность, время, затраченное на выполнение анализа, израсходованное количество анализируемого ЛВ или ЛФ.

Избирательность метода очень важна при проведении анализа смесей веществ, поскольку дает возможность получать истинные

значения каждого из компонентов. Только избирательные методики анализа позволяют определять содержание основного компонента в присутствии продуктов разложения и других примесей.

Требования к точности и чувствительности фармацевтического анализа зависят от объекта и цели исследования. При испытании степени чистоты ЛВ используют методики, отличающиеся высокой чувствительностью, позволяющие устанавливать минимальное содержание примесей.

При выполнении постадийного контроля производства, а также при проведении экспресс-анализа в условиях аптеки важную роль имеет фактор времени, которое затрачивается на выполнение анализа. Для этого выбирают методы, позволяющие провести анализ в наиболее короткие промежутки времени и вместе с тем с достаточной точностью.

При количественном определении ЛВ используют метод, отличающийся избирательностью и высокой точностью. Чувствительностью метода пренебрегают, учитывая возможность выполнения анализа с большой навеской ЛВ.

Мерой чувствительности реакции является предел обнаружения. Он означает наименьшее содержание, при котором по данной методике можно обнаружить присутствие определяемого компонента с заданной доверительной вероятностью. Термин «предел обнаружения» введен вместо такого понятия, как «открываемый минимум», им пользуются также взамен термина «чувствительность». На чувствительность качественных реакций оказывают влияние такие факторы, как объемы растворов реагирующих компонентов, концентрации реактивов, рН среды, температура, продолжительность опыта. Для установления чувствительности реакций все шире используют показатель поглощения (удельный или молярный), устанавливаемый спектрофотометрическим методом. Высокой чувствительностью отличаются физико-химические методы анализа. Наиболее высокочувствительны радиохимические и масс-спектральные методы, позволяющие определять 10^{-8} – 10^{-9} г анализируемого вещества, полярографические и флуориметрические (10^{-6} – 10^{-9} г); чувствительность спектрофотометрических методов 10^{-3} – 10^{-6} , потенциометрических 10^{-2} г.

Термин «точность анализа» включает одновременно два понятия: воспроизводимость и правильность полученных результатов. Воспроизводимость характеризует рассеяние результатов анализа

по сравнению со средним значением. Правильность отражает разность между действительным и найденным содержанием вещества. Точность анализа у каждого метода различна и зависит от многих факторов: калибровки измерительных приборов, точности взвешивания или отмеривания, опытности аналитика и т.д. Точность результата анализа не может быть выше, чем точность наименее точного измерения.

Так, при вычислении результатов титриметрических определений наименее точная цифра – количество миллилитров титранта, израсходованного на титрование. В современных бюретках в зависимости от класса их точности максимальная ошибка отмеривания (измерения) около $\pm 0,02$ мл. Ошибка от натекания тоже равна $\pm 0,02$ мл. Если при указанной общей ошибке отмеривания и натекания $\pm 0,04$ мл на титрование расходуется 20 мл титранта, то относительная погрешность составит 0,2%. При уменьшении навески и количества миллилитров титранта точность соответственно уменьшается. Таким образом, титриметрическое определение можно выполнять с относительной погрешностью $\pm(0,2-0,3)\%$.

Точность титриметрических определений можно повысить, если пользоваться микробюретками, применение которых значительно уменьшает ошибки от неточного отмеривания, натекания и влияния температуры. Погрешность допускается также при взятии навески.

Взвешивание навески при выполнении анализа ЛВ осуществляют с точностью до $\pm 0,2$ мг. При взятии обычной для фармакопейного анализа навески 0,5 г ЛВ и точности взвешивания $\pm 0,2$ мг относительная погрешность будет равна 0,4%. При анализе ЛФ и выполнении экспресс-анализа такая точность при взвешивании не требуется, поэтому навеску берут с точностью $\pm(0,001-0,01)$ г, т.е. с предельной относительной погрешностью 0,1–1%.

При выполнении количественного определения любым химическим или физико-химическим методом могут быть допущены три группы ошибок: грубые (промахи), систематические (определенные) и случайные (неопределенные).

Грубые ошибки являются результатом просчета наблюдателя при выполнении какой-либо из операций определения или неправильно выполненных расчетов. Результаты с грубыми ошибками отбрасываются как недоброкачественные.

Систематические ошибки отражают правильность результатов анализа. Они искажают результаты измерений обычно в одну сторону (положительную или отрицательную) на некоторое постоянное значение. Причиной систематических ошибок в анализе могут быть, например, гигроскопичность ЛВ при взвешивании его навески, несовершенство измерительных и физико-химических приборов, опытность аналитика и т.д. Систематические ошибки можно частично устранить внесением поправок, калибровкой прибора и т.д.

Случайные ошибки отражают воспроизводимость результатов анализа. Они вызываются неконтролируемыми переменными.

Правильность результатов определений выражают абсолютной ошибкой и относительной ошибкой (погрешностью).

Абсолютная ошибка представляет собой разность между полученным результатом и истинным значением. Эта ошибка выражается в тех же единицах, что и определяемая величина (граммах, миллилитрах, процентах).

Относительная погрешность определения равна отношению абсолютной ошибки к истинному значению определяемой величины. Выражают относительную погрешность обычно в процентах (умножая полученную величину на 100). Относительная погрешность определений физико-химическими методами включает как точность выполнения подготовительных операций (взвешивание, отмеривание, растворение), так и точность выполнения измерений на приборе (инструментальная ошибка).

Индивидуальные вещества можно определять при анализе спектрофотометрическим методом в УФ- и видимой областях с относительной погрешностью $\pm(2-3)\%$, ИК-спектрофотометрией $\pm(5-12)\%$, газожидкостной хроматографией $\pm(3-3,5)\%$; полярографией $\pm(2-3)\%$; потенциометрией $\pm(0,3-1)\%$. При анализе ЛВ в многокомпонентных смесях относительная погрешность определения этими методами возрастает примерно в два раза. Сочетание хроматографии с другими методами позволяет выполнять анализ ЛВ в ЛФ с относительной погрешностью $\pm(3-7)\%$.

Точность биологических методов намного ниже, чем химических и физико-химических. Относительная погрешность биологических определений достигает 20–30 и даже 50%. Для повышения точности в ГФ XI введен статистический анализ результатов биологических испытаний.

Относительная погрешность определения может быть уменьшена за счет увеличения числа параллельных измерений. Однако эти возможности имеют определенный предел. Уменьшать случайную ошибку измерений, увеличивая число опытов, целесообразно до тех пор, пока она станет меньше систематической. Обычно в фармацевтическом анализе для расчетов берут среднее из трех параллельных измерений. При статистической обработке результатов определений с целью получения достоверных результатов выполняют не менее семи параллельных измерений.

3.4. Физические свойства, используемые для установления подлинности лекарственных веществ

Испытание на подлинность – это подтверждение идентичности анализируемого лекарственного вещества (лекарственной формы), осуществляемое на основе требований Фармакопеи или другой НД (ФС, ФСП). Испытания выполняют физическими, химическими и физико-химическими методами. Свои особенности имеют испытания неорганических, элементарорганических и органических ЛВ.

Подлинность ЛВ подтверждают показатели: описание внешнего вида, его физические свойства, физические константы и растворимость в различных растворителях. Они дают ориентировочную характеристику испытуемого ЛВ.

Физические свойства твердых ЛВ оценивают по форме кристаллов или по виду аморфного вещества, его устойчивости к свету, кислороду, содержащемуся в воздухе, гигроскопичности и степени выветривания, запаху, цвету, степени белизны. Степень белизны (по ГФ XI) ЛВ оценивают на спектрофотометрах СФ-18 по спектру отражения образца при его освещении белым светом. Для жидкостей устанавливают цвет, запах, летучесть, подвижность, воспламеняемость.

Температура плавления – это температура, при которой вещество переходит из твердого состояния в жидкое. По ГФ XI под температурой плавления понимают интервал температур между началом плавления (появление первой капли жидкости) и концом плавления (полным переходом вещества в жидкое состояние). Интервал между началом и концом плавления не должен превышать 2°C. Температура плавления – постоянная характеристика для ин-

дивидуального ЛВ. В присутствии даже небольшого количества примесей она изменяется, что используется для подтверждения степени чистоты ЛВ.

Для ЛВ, неустойчивых при нагревании, согласно требованиям ГФ XI устанавливают **температуру разложения**, т.е. температуру, при которой происходит резкое изменение вещества (вспенивание). Если переход вещества из твердого в жидкое состояние нечеткий, то устанавливают только температуру начала или температуру конца плавления, что оговаривается в ФС или ФСП.

В ГФ XI (вып. 1, с.17) приведены три метода определения температуры плавления. Применение того или иного метода зависит от физических свойств веществ: метод 1 и 1а применяют для легко растираемых в порошок твердых ЛВ, устойчивых (метод 1) и неустойчивых (метод 1а) при нагревании; методы 2 и 3 используют для ЛВ, не растирающихся в порошок (жиры, воск, парафин, вазелин, смолы).

Температура затвердевания – наиболее высокая температура, при которой в течение короткого времени происходит переход ЛВ из жидкого в твердое состояние.

Температуру кипения устанавливают для жидких ЛВ. Это температура, при которой жидкость превращается в пар. Для практических целей по ГФ XI используют **температурные пределы перегонки** – интервал между начальной и конечной температурой кипения при нормальном атмосферном давлении 101,3 кПа (760 мм рт. ст.). Начальной считают температуру кипения, при которой в приемник перегоняется первые 5 капель жидкости, а конечной – 95% жидкости.

Плотностью называют массу единицы объема вещества (массу 1 см³) при стандартной температуре (обычно 20 °С). Определение плотности проводят с помощью пикнометра в тех случаях, когда следует установить эту константу с точностью до 0,001, или ареометра (в случае определения плотности с точностью до 0,01). Соответствующие методики описаны в ГФ XI (в.1, с.24–26).

Вязкость (внутреннее трение) – свойство текучих тел (жидкостей) оказывать сопротивление перемещению одной их части относительно другой при определенной температуре. Для подтверждения качества жидких ЛВ, имеющих вязкую консистенцию, обычно определяют относительную вязкость ($\eta_{\text{отн.}}$), принимая вязкость воды за единицу. Различают также динамическую (абсолютную),

удельную, приведенную, характеристическую и кинематическую вязкость. Последнюю устанавливают с помощью вискозиметра Оствальда (ГФ XI, в.1, с.87–94).

Растворимость – свойство газообразных, жидких и твердых веществ переходить в растворенное состояние. Растворимость в фармакопейном анализе рассматривают, как свойство ЛВ растворяться в различных растворителях. Растворимость при постоянной температуре является одной из основных характеристик, с помощью которой подтверждают доброкачественность большинства ЛВ.

Для обозначения растворимости в ГФ XI приняты условные термины, указывающие количество растворителя (мл), необходимое для растворения 1 г ЛВ. Различают очень легко растворимые (до 1 мл), легко растворимые (от 1 до 10), растворимые (от 10 до 30), умеренно растворимые (от 30 до 100), мало растворимые (от 100 до 1000), очень мало растворимые (от 1000 до 10000), практически нерастворимые (более 10000 мл).

Методика определения растворимости по ГФ XI (вып. 1, с. 175–176) состоит в том, что навеска ЛВ вносится в отмеренный объем растворителя и непрерывно перемешивается в случае необходимости до 10 мин. при 20 ± 2 °С. Растворившимся ЛВ считают в том случае, если в растворе при наблюдении в проходящем свете не наблюдается частиц вещества. Отклонения от этого общего правила: образование мутных растворов, растворение более продолжительное, чем в течение 10 мин. (такие ЛВ называют медленно растворимыми). Показатели растворимости в различных растворителях указываются в ФС. В качестве растворителей, кроме воды, используются растворы кислот и щелочей (карбонатов), а также различные органические растворители (этанол, метанол, хлороформ, эфир, ацетон, гексан, дихлорэтан, этилацетат) и масла.

Метод фазовой растворимости основан на правиле фаз Гиббса, которое устанавливает зависимость между числом фаз и числом компонентов в условиях равновесия. Суть установления фазовой растворимости состоит в последовательном прибавлении увеличивающейся массы ЛВ к постоянному объему растворителя при постоянной температуре и непрерывном встряхивании. Затем с помощью диаграмм количественно определяют массу растворенного ЛВ, устанавливая процентное содержание в нем примеси.

Таким образом, метод фазовой растворимости позволяет осуществить количественную оценку степени чистоты ЛВ путем точных измерений значений растворимости. Он применим ко всем соединениям, которые образуют истинные растворы, и используется для изучения стабильности и получения очищенных (до 99,5%) образцов ЛВ.

3.5. Химические методы установления подлинности

III.5.1. Идентификация неорганических лекарственных веществ

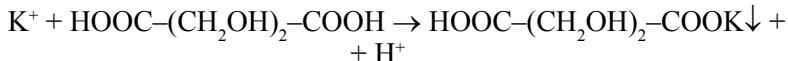
Установление подлинности неорганических ЛВ основано на обнаружении с помощью химических реакций катионов и анионов, входящих в состав их молекул. С точки зрения приемов выполнения испытаний и получаемых при этом результатов можно выделить несколько общих способов.

Реакции осаждения основаны на образовании нерастворимых в воде продуктов реакции, аналитический эффект можно охарактеризовать по окраске или по растворимости осадков (в органических растворителях, кислотах, щелочах).

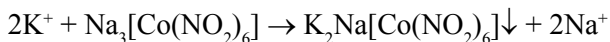
Ионы натрия осаждают цинкуранилацетатом с образованием желтого осадка:



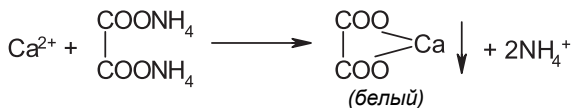
Ионы калия осаждают винной кислотой с образованием белого осадка:



Ионы калия можно осадить раствором гексанитрокобальтата (III) натрия, образуется желтый осадок:



Ионы кальция осаждают оксалатом аммония:



Некоторые реакции осаждения можно использовать для обнаружения и катионов и анионов.

Ионы магния образуют в присутствии фосфат- и аммоний-ионов осадок фосфата магния-аммония белого цвета:

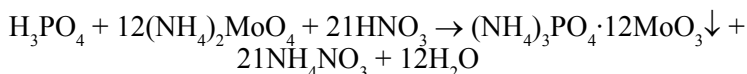


Эту же реакцию используют для обнаружения фосфат-ионов.

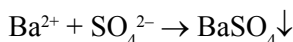
Арсенат-ионы дают аналогичные результаты:



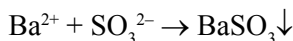
Фосфат-ионы образуют с раствором молибдата аммония желтый осадок фосфор-молибдата:



Ионы бария образуют белый осадок с сульфат-ионами:

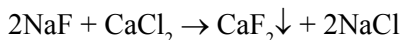


Аналогичную реакцию дают сульфиты:

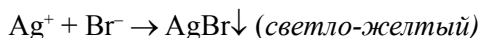


Сульфит бария, в отличие от сульфата бария, растворим в хлороводородной кислоте.

Ионы фтора открывают реакцией осаждения из раствора хлорида кальция, происходит выпадение белого осадка:

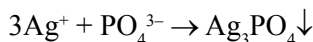


Ионы серебра образуют осадки с хлоридами, бромиды, иодидами:

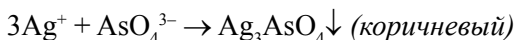


Образующиеся галогениды различаются по растворимости в растворе аммиака.

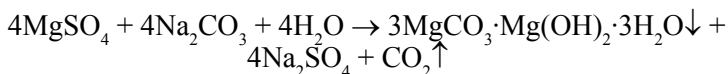
Желтый осадок образуют ионы серебра с фосфатами:



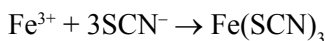
Образует осадки ион серебра также с арсенит- и арсенат-ионами:



Ионы магния с растворами карбонатов образуют белый осадок основного карбоната магния:

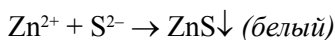
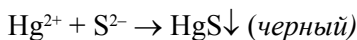


Ионы железа (III) в растворе приобретают красное окрашивание в присутствии роданид-ионов, образуя малодиссоциирующее соединение:

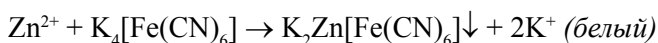
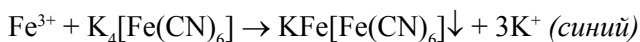


Ряд реактивов образуют белые или окрашенные осадки с несколькими катионами.

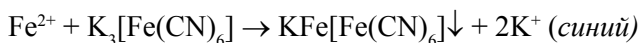
Ионы ртути, цинка, висмута, мышьяка взаимодействуют с сульфидами:



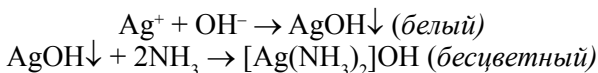
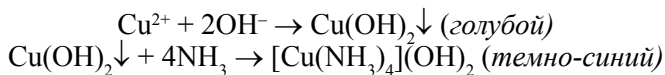
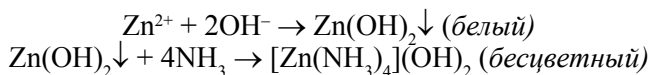
Ионы железа (III) и цинка осаждаются растворами гексацианоферрата (II) калия:



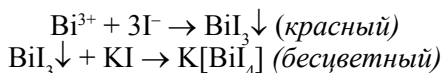
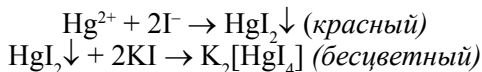
Ионы железа (II) дают аналогичные результаты с гексацианоферратом (III) калия:



Ионы цинка, меди и серебра осаждаются гидроксидом аммония с образованием осадков, растворимых в избытке реактива:

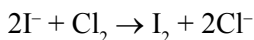
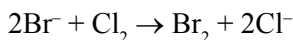


Ионы ртути (II) и висмута (III) осаждаются иодидами, осадки растворяются в избытке реактивов:



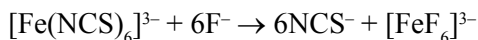
Окислительно-восстановительные реакции, используемые для испытаний подлинности, сопровождаются изменением окраски образующихся продуктов взаимодействия.

Бромид- и иодид-ионы окисляют хлором (хлорамином, другими окислителями):

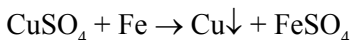


Выделившийся бром окрашивает слой хлороформа в оранжевый цвет, а иод – в фиолетовый. Иод обнаруживают также по синему окрашиванию крахмального клейстера.

Фторид-ионы обесцвечивают красную окраску раствора роданида железа:

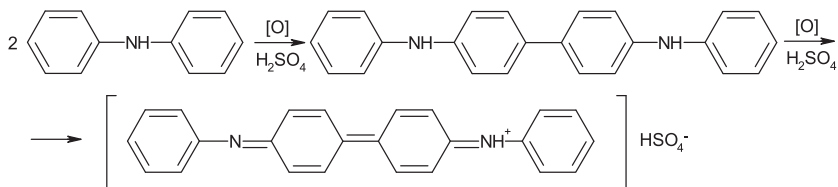


Ионы меди, серебра восстанавливаются из оксидов и солей до свободных металлов:

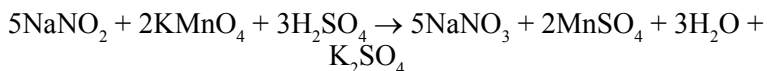


Нитрат- и нитрит-ионы обнаруживают путем окисления ди-

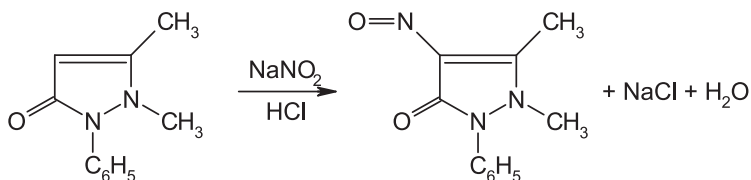
фениламина до дифенилбензидина, а затем до дифенилдифенохинондиимина гидросульфата (синее окрашивание) в присутствии концентрированной серной кислоты:



Нитрит-ионы (в отличие от нитратов) обесцвечивают раствор перманганата калия, подкисленный серной кислотой:

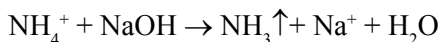


Взаимодействуя с антипирином (феназоном), нитриты образуют **продукт замещения** – нитрозоантипирин (зеленое окрашивание):



Реакции разложения сопровождаются образованием газообразных продуктов, которые обнаруживают органолептически (запах, окраска).

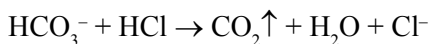
Ионы аммония разлагаются под действием растворов гидроксидов (запах аммиака или изменение окраски красной лакмусовой бумаги):



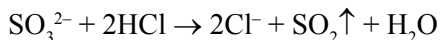
Карбонат-ионы под действием насыщенного раствора сульфата магния образуют белый осадок, а гидрокарбонат образует осадок только при кипячении смеси (см. реакцию на магний).

Карбонат- и гидрокарбонат-ионы образуют газ – диоксид углерода под действием минеральных кислот:

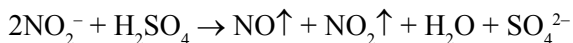




Сульфит-ионы в тех же условиях образуют диоксид серы (резкий запах):



Нитрит-ионы, в отличие от нитрат-ионов, под действием кислот выделяют оксиды азота (диоксид азота имеет красно-бурую окраску):



Превращения, происходящие при нагревании и прокаливании некоторых ЛВ. Иод кристаллический, соединения мышьяка, ртути возгоняются (испытания выполнять под тягой!). Цинка оксид при прокаливании желтеет (после охлаждения окраска исчезает). Висмута нитрат основной разлагается с образованием оксида висмута (желтое окрашивание) и диоксида азота (желто-бурые пары). Соли алюминия при прокаливании с нитратом кобальта образуют плав синего цвета, представляющий собой алюминат кобальта (Тенарова синь). Соли цинка в этих условиях образуют плав зеленого цвета (зелень Ринмана).

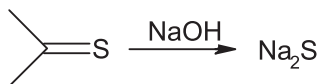
Установить наличие ряда элементов в неорганических и элементарноорганических ЛВ можно по изменению окраски бесцветного пламени горелки. Так, соль натрия, внесенная в пламя, окрашивает его в желтый цвет, калия – в фиолетовый, кальция – в кирпично-красный, лития – в карминово-красный. Соли бора, смоченные этанолом, окрашивают кайму пламени в зеленый цвет.

3.5.2. Идентификация элементарноорганических лекарственных веществ

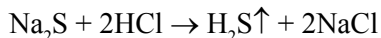
Поскольку атомы у большинства элементарноорганических соединений связаны ковалентной связью, необходимым условием испытания их подлинности является предварительная минерализация. При этом происходит частичное или полное разрушение органической части молекулы до оксида углерода (IV) и воды. Другие элементы образуют соответствующие ионы. Последние идентифицируют с помощью рассмотренных выше или иных реакций.

Серу обнаруживают либо путем восстановления до сульфид-ионов, либо окислением до сульфат-ионов. Образование сульфида

происходит также из соединений, содержащих тиоэфирную или тиокетонную серу при нагревании с 10% раствором гидроксида натрия:



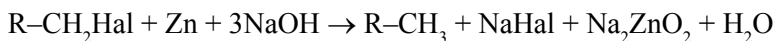
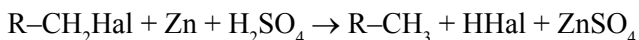
Образовавшийся при восстановлении органически связанной серы сульфид натрия идентифицируют цветной реакцией с нитропруссидом натрия (красно-фиолетовое окрашивание), осаждением раствором соли свинца (черное) или по выделению сероводорода:



Окисление органически связанной серы осуществляют действием концентрированной азотной кислоты или сплавлением со смесью нитрата и карбоната калия. Образовавшийся сульфат-ион открывают реакцией с солями бария.

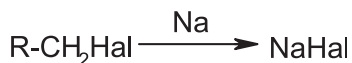
Фосфорсодержащие соединения минерализуют смесью концентрированных серной и азотной кислот до фосфат-ионов, которые обнаруживают реакциями образования фосфата магния-аммония или фосфор-молибдата аммония (см. реакции на фосфат-ион).

Галогенсодержащие соединения под действием цинковой пыли в кислой или в щелочной среде образуют галогениды:

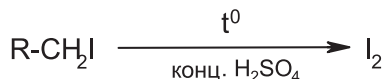


Затем обнаруживают образовавшиеся галогенид-ионы с помощью рассмотренных выше реакций. Проба Бейльштейна основана на образовании окрашенных в зеленый цвет галогенидов меди при внесении в бесцветное пламя медной проволоки с галогеносодержащим соединением.

Фтор и хлор открывают аналитическими реакциями на соответствующие ионы после разрушения органической части молекулы расплавленным металлическим натрием:

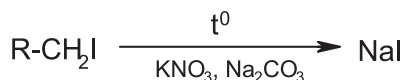


Иод обнаруживают либо нагреванием иодпроизводного в пробирке на пламени горелки, либо действуя концентрированной серной кислотой:



Наблюдают выделение фиолетовых паров иода или фиолетовую окраску хлороформного извлечения.

Можно также применить спекание со смесью нитрата калия и карбоната натрия:



Затем обнаруживают иодид-ионы.

Метод спекания можно использовать при наличии в одном соединении хлора и серы с последующим обнаружением образовавшихся хлорид- и сульфат-ионов.

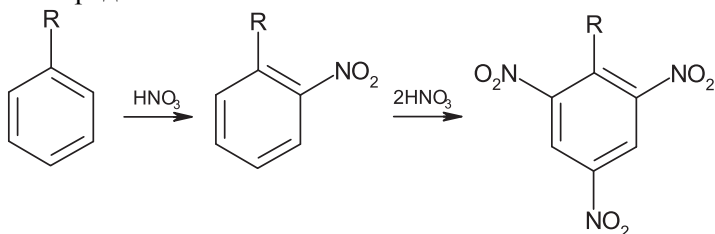
Кобальт обнаруживают в виде ионов реакцией с нитрозо-R-солью (динатриевой солью 1-нитрозо-2-нафтол-3,6-дисульфокислоты) после спекания кобальтсодержащего соединения с гидросульфитом калия (красное окрашивание).

3.5.3. Идентификация органических лекарственных веществ

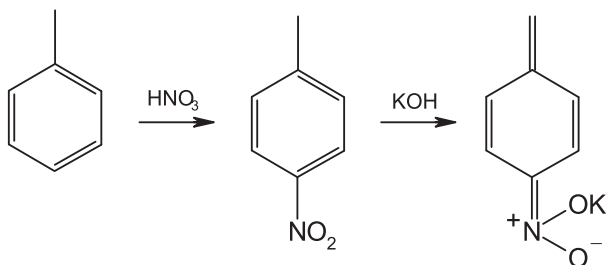
3.5.3.1. Общие химические реакции

В фармацевтическом анализе используются различные химические реакции органических соединений, которые дают определенный аналитический эффект (выпадение осадка, выделение газа, образование окрашенного раствора и т.д.).

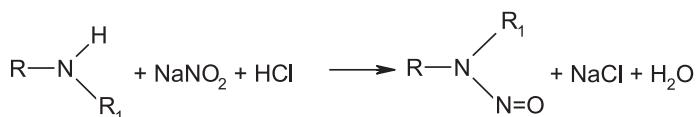
Реакции нитрования сопровождаются образованием окрашенных в желтый цвет моно-, ди- и тринитропроизводных ароматического ряда:



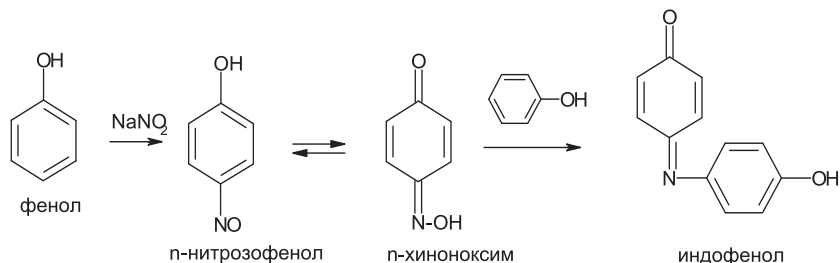
Под действием гидроксидов калия (натрия) продукты нитрования образуют окрашенные ацили:



Реакции нитрозирования приводят к образованию окрашенных, флуоресцирующих или имеющих стабильную температуру плавления нитрозосоединений:

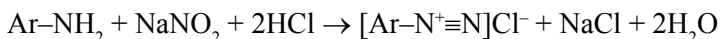


Фенолы образуют нитрозосоединения, бесцветные или окрашенные в сине-зеленый (фенол), сине-фиолетовый (резорцин) цвет. При нитрозировании фенолов с последующим окислением образуются индофенолы (интенсивно-синее окрашивание):

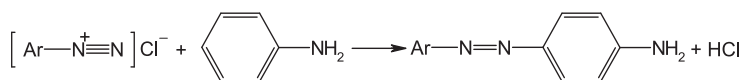
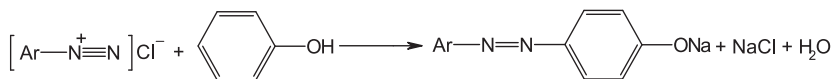


Реакции диазотирования и азосочетания используют для идентификации производных первичных ароматических аминов и фенолов. Азосоединения – окрашенные (в красный, коричневый и оранжевый цвет) продукты, получаемые в две стадии:

1. Диазотирование (получение соли диазония):



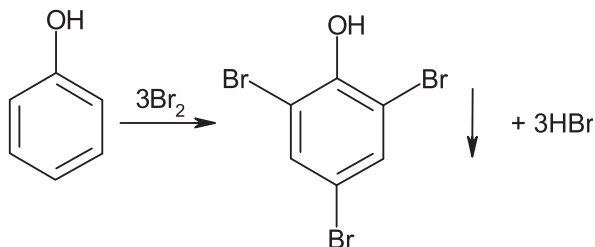
2. Азосочетание (взаимодействие соли диазония с фенолом или ароматическим амином). Сочетание происходит в *орто*- или *пара*-положениях по отношению к гидроксильной или аминогруппе, но идет легче в *пара*-положении:



Азосочетание с фенолами (нафтолами) происходит в слабощелочной (pH 9,0–10,0), а с аминами – в слабокислой среде. Процесс азосочетания обусловлен наличием в этих соединениях электронодонорных –OH и –NH₂ групп, создающих частично отрицательные заряды в орто- и пара-положениях ароматического ядра. В этих положениях происходит электрофильное замещение водорода катионом диазония и образуется азосоединение.

Реакцию азосочетания используют также для идентификации сложных эфиров фенолов, ацилированных первичных ароматических аминов (после гидролиза) и нитропроизводных (после гидрирования).

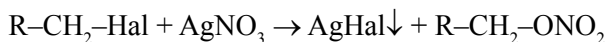
Реакции галогенирования (бромирования и иодирования) по типу реакции электрофильного замещения используют для обнаружения производных фенолов и первичных ароматических аминов. Наличие в их молекулах заместителей первого рода (окси- и аминогруппы) обуславливает происходящий процесс образования трибромфенола или триброманилина (белый осадок):



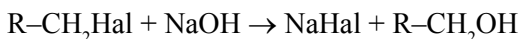
Аналогично происходит процесс образования трииодпроизводных. При наличии в молекулах фенола и анилина радикалов в

пара- или орто-положениях образуются моно- или дигалогенпроизводные.

Реакции дегалогенирования можно выполнять без предварительной минерализации (если галогены связаны с углеродом непрочной ковалентной связью). Отщепление галогена при этом происходит под действием раствора нитрата серебра:

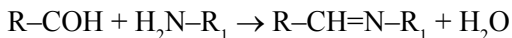


Дегалогенируют также, используя щелочное отщепление, путем нагревания галогенпроизводного в присутствии цинковой пыли (бромкамфора) или в спиртовом растворе гидроксида натрия:

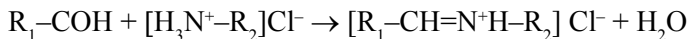


Затем обнаруживают галогенид-ион.

Реакции конденсации альдегидов и кетонов с первичными аминами, гидроксиламином, гидразинами используются для идентификации всех указанных групп органических соединений по общей схеме:

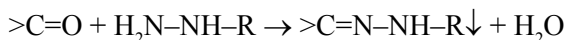


Альдегиды, конденсируясь с первичными аминами, образуют окрашенные в желтый, красный или оранжевый цвет соли оснований Шиффа:

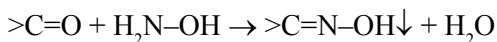


Эта реакция лежит в основе лигниновой пробы на первичные ароматические амины, которые взаимодействуют с лигнинами, содержащимися в бумаге.

Кетопроизводные образуют гидразоны:



и кетоксимы:

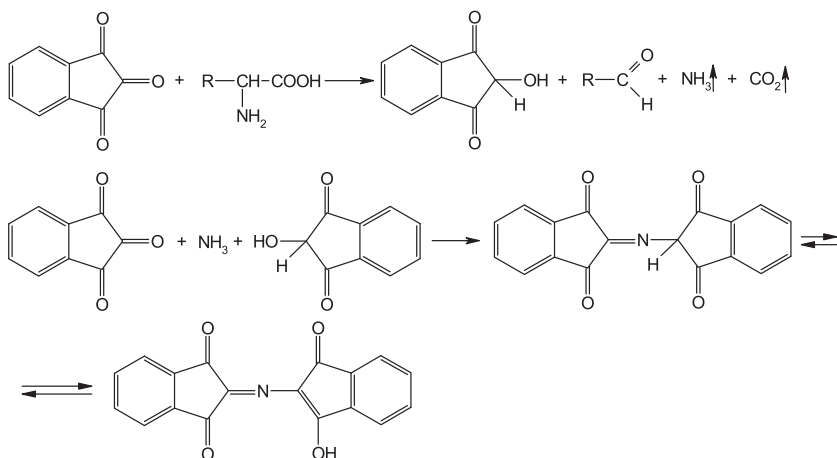


Гидразоны и кетоксимы – белые или окрашенные нерастворимые в воде соединения со стабильной температурой плавления. По этим признакам можно идентифицировать исходные для их получения соединения.

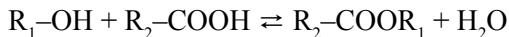
Реакции окислительной конденсации с участием альдегидов лежат в основе таких широко применяемых в фармацевтическом

анализе реакций, как образование ауринового красителя, нингидриновая реакция, мурексидная проба, проба Ле Розена и др.

Нингидриновая реакция является общей для α -аминокислот, иминокислот, полипептидов. Нингидрин (1,2,3-трикетогидринденгидрат) образует с аммиаком, выделившимся из этих соединений, продукт конденсации – ион дикетогидриндилидендикетогидрами-на, имеющий сине-фиолетовое окрашивание:

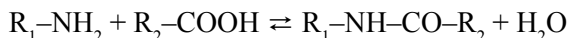


Реакции этерификации, ацилирования и гидролиза. Для подтверждения подлинности спиртов и карбоновых кислот широко используют реакцию этерификации, а подлинность сложных эфиров подтверждают с помощью обратного процесса – гидролиза:



Этерификацию проводят в присутствии дегидратирующих веществ (концентрированная серная кислота), а гидролиз – в кислой или щелочной среде.

Сходен с этерификацией процесс ацилирования (особенно ацетилирования) аминопроводных:

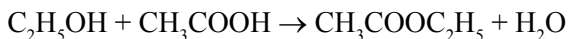


а также обратный процесс – гидролиз ацильных производных.

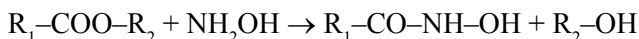
Образовавшиеся в результате этерификации, ацилирования, гидролиза продукты идентифицируют по аналитическому эффекту

(цвету, запаху, образованию газа или осадка, температуре плавления осадка и др.).

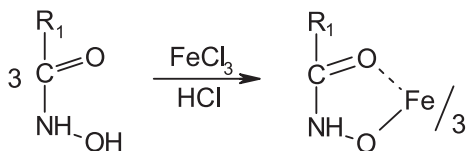
Очень широко используют, например, реакцию образования этилацетата, имеющего своеобразный фруктовый запах. Этилацетат образуют органические соединения, выделяющие при гидролизе этанол или уксусную кислоту.



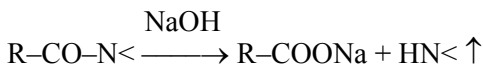
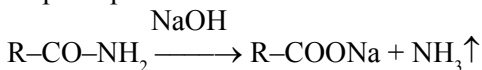
Общим способом испытаний ЛВ, содержащих в молекуле сложнэфирную, лактонную, лактамную, амидную, имидную группы, является реакция, основанная на образовании гидроксамовых кислот (гидроксамовая проба):



Гидроксамовые кислоты, взаимодействуя с ионами железа (III) или меди (II), образуют окрашенные соли:



Реакции разложения амидов происходят при нагревании в растворах едких щелочей с образованием аммиака или алкиламидов, имеющих характерный запах:



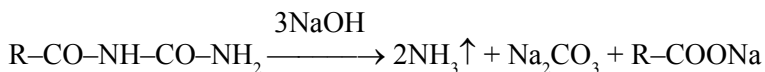
Первичные, вторичные и третичные амины в тех же условиях образуют, соответственно, метиламин, диметиламин и триметиламин, например:



Указанные химические реакции используют для испытания подлинности солей первичных аммониевых оснований, амидов

ароматических и гетероциклических кислот, производных уретанов.

Ациклические и циклические уреиды, алкилуреиды сульфокислот, производные гуанидина и семикарбазона, имеющие в молекуле уреидную группу, гидролизуются в щелочной среде с образованием аммиака. Например, уреиды:



К этой группе реакций можно отнести используемый в фармацевтическом анализе пиролиз (термическое разложение в сухой пробирке). Используют пиролиз для идентификации сульфаниламидов, производных бензодиазепина, пиридина и других ЛВ, которые образуют плавы с различной окраской и выделяют газообразные продукты с характерным запахом.

Реакции окисления-восстановления.

Процесс гидрирования осуществляют, как правило, водородом в момент выделения (при взаимодействии металлического цинка с хлороводородной кислотой). Эту реакцию используют для идентификации непредельных соединений, превращая их в предельные, или для восстановления нитросоединений до аминопроизводных:



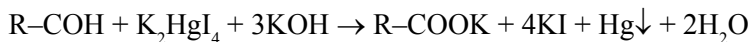
Широко используются в фармацевтическом анализе реакции окисления. Первичные спирты идентифицируют последовательно окисляя до альдегидов и кислот, которые затем обнаруживают с помощью характерных реакций:



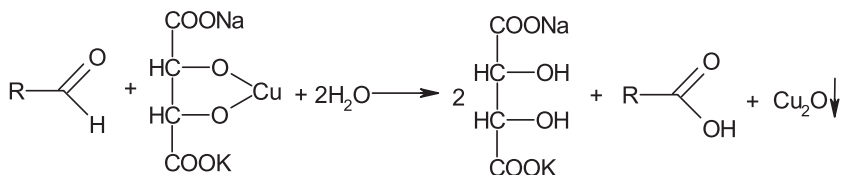
Так, например, восстановительные свойства альдегидов устанавливают с помощью реакции образования «серебряного зеркала»:



Этот же процесс лежит в основе взаимодействия реактива Несслера с альдегидами:



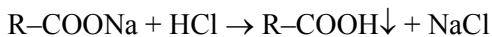
Реакция окисления альдегидов лежит в основе использования реактива Фелинга, представляющего собой смесь отдельно приготавливаемых растворов сульфата меди и калий-натриевой соли винной кислоты. В щелочной среде при нагревании в присутствии альдегидов образуется красный осадок оксида меди (I). Общая схема этой реакции:



3.5.3.2. Реакции образования солей и комплексных соединений

Соли органических кислот идентифицируют по наличию катионов натрия, калия, кальция и др. (с помощью рассмотренных выше реакций), а также по наличию анионов органических кислот (ацетат-, бензоат-, салицилат-, тартрат-, цитрат- и других ионов).

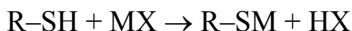
Широко пользуются при испытаниях на подлинность реакцией нейтрализации натриевых (калиевых) солей органических кислот (бензойной, салициловой и др.):



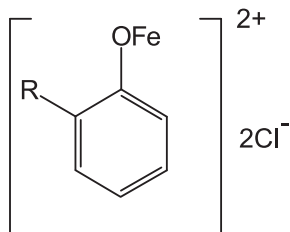
Нерастворимые в воде кислоты при этом осаждаются, и их идентифицируют по температуре плавления.

Нерастворимые в воде или окрашенные соли и комплексные соединения образуют с ионами тяжелых металлов органические ЛВ, содержащие в молекуле: спиртовый и фенольный гидроксил, вторичную аминогруппу, имидную группу и др. В качестве реактивов при этом используют соли железа (III), меди (II), ртути (II), кобальта, свинца, кадмия, серебра, сурьмы и др.

Меркаптаны с солями этих металлов (M) образуют меркаптиды:

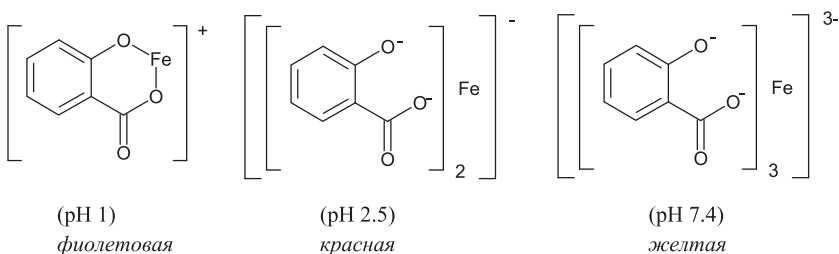


Ион железа (III) – наиболее широко используемый в фармацевтическом анализе реактив. Взаимодействуя с фенолами, он образует ионы феноксидов железа, окрашенные в синий, фиолетовый или красный цвет, например:



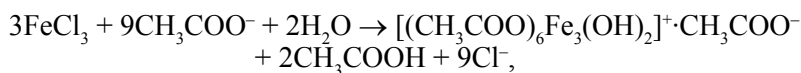
Окрашенные комплексы с ионами железа (III) образуют практически все органические соединения, содержащие в молекуле фенольный гидроксил. Если он связан в сложноэфирную группу, то реакцию выполняют после гидролиза.

Различную окраску в зависимости от pH среды имеют комплексные соединения иона железа (III) и салицилат-иона:

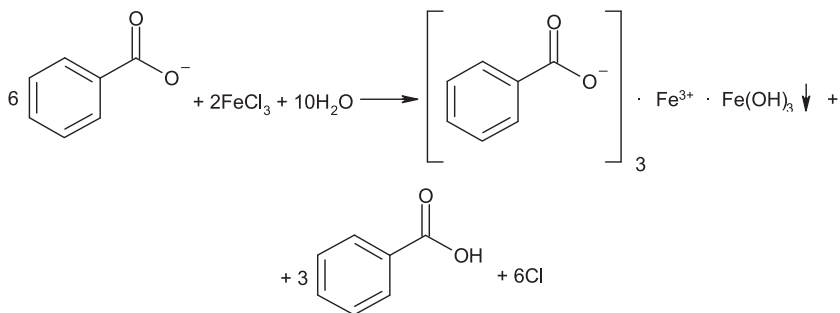


Структура этих комплексов обусловлена наличием у салицилат-иона не только фенольного гидроксила, но и карбоксильной группы.

Ионы железа (III) образуют окрашенные в красный цвет соли с ацетат-ионом:

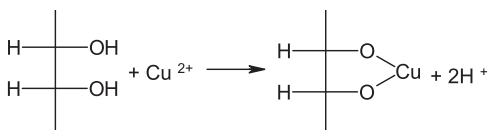


а с бензоат-ионом – бензоат железа (розовато-желтый осадок):

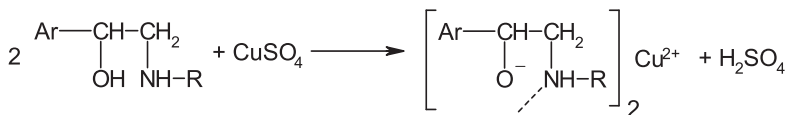


Окрашенные комплексные соли образуют с ионами железа (III) также глюконат-, аминосалицилат-ионы, кислота аскорбиновая, производные пиразолона, 8-оксихинолина, 4-оксикумарина, аминофенолы, флавоноиды и др.

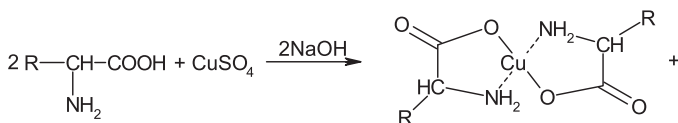
Ион меди (II) образует окрашенные комплексные ионы с многоатомными спиртами (глицерол, аминокислоты):



Наличие спиртового гидроксила и вторичной аминогруппы в молекулах аминокислот создает условия для образования окрашенных внутрикомплексных соединений:

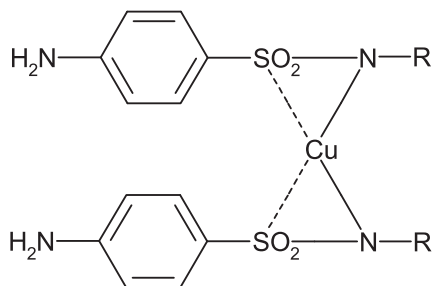


Аминокислоты с солями меди (II) образуют комплексные соединения, имеющие темно-синюю окраску:



Различные по растворимости и окраске внутрикомплексные соединения меди (II) образуются с сульфаниламидами. Ион меди

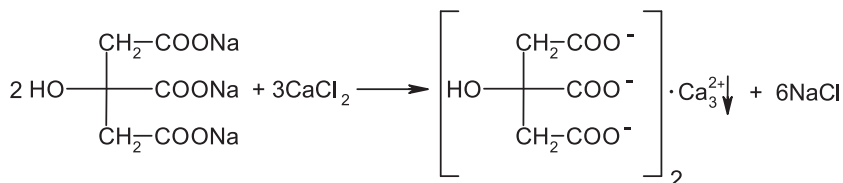
при этом замещает подвижный атом водорода:



Подобные комплексы с амидами сульфаниловой кислоты образуют и другие ионы тяжелых металлов (кобальта, серебра).

При определенных значениях pH среды с солями меди образуют комплексные соединения барбитураты, гидроксамовые кислоты и др.

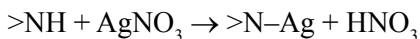
Ионы кальция с цитратами образуют при кипячении белый осадок цитрата кальция:



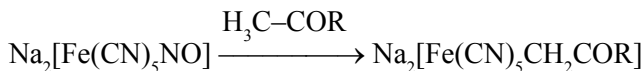
Ионы сурьмы (III) образуют окрашенные продукты с ретинолом (синий) и эргокальциферолом (оранжево-желтый).

Ионы кобальта в присутствии солей кальция образуют синефиолетовые комплексные соединения с барбитуратами. С производными пурина, имеющими в молекуле незамещенный атом водорода в имидной группе в положении 1 и 7, соли кобальта образуют окрашенные осадки.

Ионы серебра образуют растворимые (монозамещенные) соли с барбитуратами, производными пурина, при наличии в их молекулах незамещенной имидной группы:



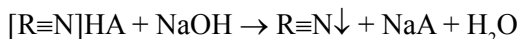
Нитропруссид натрия $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]\cdot\text{H}_2\text{O}$ образует окрашенные продукты с различными органическими соединениями вследствие замещения нитрозогруппы в его молекуле, например, кетонами:



Кроме кетонов, окрашенные продукты с нитропруссидом натрия образуют альдегиды, фенолы, сульфаниламиды, производные пиридина, изоникотиновой кислоты, имидазола, ряд алкалоидов, сердечных гликозидов и др.

III.5.3.3. Идентификация органических оснований и их солей

Общим испытанием на соли органических оснований $[\text{R}\equiv\text{N}]\text{HA}$ с неорганическими и органическими кислотами (HA) является реакция нейтрализации связанных с ними кислот. При этом органическое основание выпадает в осадок:



Затем основание можно идентифицировать по температуре плавления или с помощью цветных реакций.

Анионы связанных неорганических (хлороводородной, бромоводородной, иодоводородной, азотной, фосфорной) и органических (бензойной, салициловой, виннокаменной и др.) кислот обнаруживают с помощью рассмотренных выше качественных реакций.

Органические азотсодержащие основания и их соли, в т.ч. алкалоиды, витамины, антибиотики, можно идентифицировать с помощью осадительных (общееалкалоидных) реактивов. Наиболее широко применяемые осадительные реактивы представляют собой комплексные или органические соединения: раствор иода в иодиде калия $\text{KI}[\text{I}_2]$ (реактив Вагнера-Бушарда); раствор иодида висмута в иодиде калия (реактив Драгендорфа) $\text{K}[\text{BiI}_4]$; раствор иодида ртути в иодиде калия (реактив Майера) $\text{K}_2[\text{HgI}_4]$; раствор иодида кадмия в иодиде калия (реактив Марме) $\text{K}[\text{CdI}_4]$; фосфорновольфрамовая кислота (реактив Шейблера) $\text{H}_3\text{PO}_4\cdot 12\text{WO}_3\cdot 2\text{H}_2\text{O}$; фосформолибденовая кислота (реактив Зонненштейна) $\text{H}_3\text{PO}_4\cdot 12\text{MoO}_3\cdot 2\text{H}_2\text{O}$; кремневольфрамовая кислота (реактив Бертрана) $\text{SiO}_2\cdot 12\text{WO}_3\cdot 2\text{H}_2\text{O}$; дихлорид ртути HgCl_2 ; пикриновая кислота (2,4,6-тринитрофенол), раствор танина (водный или спиртовой).

Осадительные реактивы образуют с органическими азотсодержащими основаниями (алифатической, ароматической, гетероциклической структуры) и их солями аморфные или кристаллические осадки (белые или окрашенные), которые имеют стабильную температуру плавления, что также подтверждает подлинность испытуемого ЛВ. Особенно широко для испытания подлинности используют пикриновую кислоту, образующую со многими органическими основаниями пикраты, нерастворимые в воде.

Для идентификации органических оснований и их солей используют реактивы, которые не совсем точно **называют специальными (специфичными)** по отношению к некоторым алкалоидам. К их числу относятся: концентрированная серная кислота, концентрированная азотная кислота, смесь этих кислот (реактив Эрсмана), концентрированная серная кислота, содержащая ванадиевую кислоту (реактив Манделина), концентрированная серная кислота, содержащая формальдегид (реактив Марки).

Концентрированная серная кислота – один из наиболее широко используемых в фармацевтическом анализе реактивов. При испытании подлинности многих органических соединений используются ее активные окислительные, дегидратирующие свойства и каталитическое действие. Сочетание концентрированной серной кислоты с другими окислителями усиливает окислительную активность этих реактивов. Кроме того, она участвует в таких химических процессах, как конденсация, кислотный гидролиз, минерализация.

Концентрированная азотная кислота используется для идентификации органических соединений, т.к. проявляет свойства окислителя и нитрующего агента. Продукты окисления приобретают различное окрашивание, а образовавшиеся нитропроизводные имеют характерное желтое окрашивание и легко переходят под действием гидроксидов щелочных металлов в ацисоли, имеющие хиноидную структуру и иную окраску.

3.6. Способы испытаний на чистоту

3.6.1. Источники и причины недоброкачественности лекарственных веществ

Основными источниками примесей являются: исходные и промежуточные продукты синтеза, сопутствующие вещества (в растительном и животном сырье), растворители, остатки кислот и

щелочей, в том числе за счет выщелачивания стекла, металл, из которого изготовлена аппаратура, песок, асбест, волокна тканей и фильтровальной бумаги и т.д.

Примеси можно разделить на две группы: технологические (внесенные исходным сырьем или образовавшиеся в процессе производства) и примеси, приобретенные в процессе хранения, транспортировки, под воздействием различных факторов (тепла, света, кислорода воздуха, влаги и др.).

Примеси могут быть токсичные (недопустимые), оказывающие влияние на фармакологический эффект, и примеси, указывающие на степень очистки ЛВ. Последние, присутствуя в больших количествах, снижают содержание биологически активных веществ и, соответственно, уменьшают активность ЛС. Поэтому в ФС (ФСП) указываются допустимые пределы содержания таких примесей и приводятся испытания, подтверждающие отсутствие токсичных примесей.

3.6.2. Общие требования к испытаниям на чистоту

Основное требование к испытаниям на чистоту – достаточная чувствительность, специфичность и воспроизводимость используемой реакции.

Содержание примесей можно установить эталонным и безэталонным путем. **Эталонный** – основан на сравнении со стандартом (эталонным раствором), содержащим определенное количество обнаруживаемой примеси. При этом в одинаковых условиях выполнения реакции наблюдают окраску или помутнение, возникающие при добавлении соответствующего реактива. **Безэталонный путь** – установление предела содержания примеси по отсутствию положительной реакции. При этом предел содержания примесей не превышает чувствительности реакции.

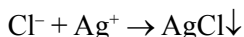
При выполнении испытаний на чистоту необходимо строго соблюдать общие указания ГФ: достаточная степень чистоты воды и растворов реактивов, точность навесок (до 0,001 г), одинаковые диаметры и цвет стекла посуды, объемы реактивов, последовательность и скорость их прибавления, единообразные условия наблюдения результатов испытаний.

3.6.3. Общие испытания на примеси неорганических ионов

Определение примесей и приблизительную оценку их количества осуществляют колориметрическим или нефелометрическим

методами путем сравнения с эталонными растворами, нормирующими предельное содержание примеси.

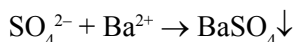
Испытание на хлориды основано на реакции с ионами серебра:



Возникает белая опалесценция, не исчезающая после добавления азотной кислоты и исчезающая при добавлении раствора аммиака:

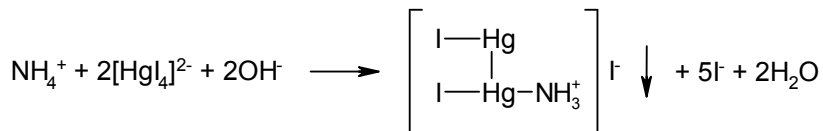


Испытание на сульфаты основано на реакции с ионами бария:



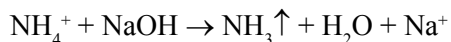
Образуется белая опалесценция, не исчезающая от добавления хлороводородной кислоты.

Испытание на соли аммония основано на взаимодействии с реактивом Несслера:



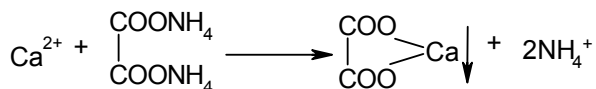
Образуется желтое окрашивание или желто-бурый осадок.

Менее чувствителен (0,003 мг в 1 мл) способ обнаружения примеси солей аммония, основанный на выделении аммиака под действием гидроксида натрия:

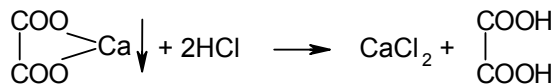


Выделяющийся аммиак обнаруживают по запаху или по посинению красной лакмусовой бумаги.

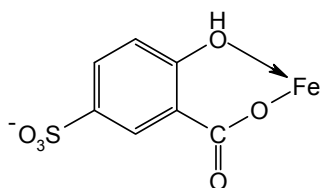
Испытание на соли кальция основано на образовании белого мелкокристаллического осадка при действии оксалатом аммония:



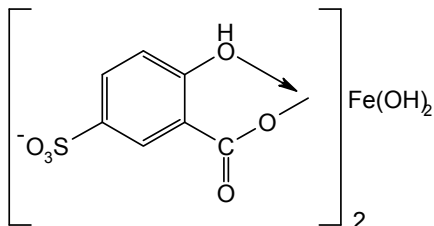
Осадок не исчезает при добавлении уксусной кислоты, но легко растворяется в хлороводородной или азотной кислотах:



Испытание на соли железа (II) и (III) основано на образовании окрашенных феррилсульфосалицилатных солей или комплексов при взаимодействии с раствором сульфосалициловой кислоты. Окраска и состав комплексов зависят от pH среды:

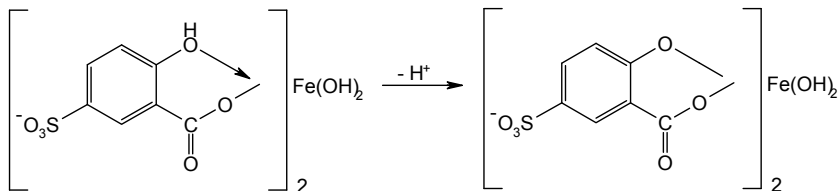


красно-фиолетовый
pH 1,8-2,5;
 $\lambda = 510\text{nm}$

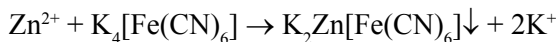


красно-бурый
pH 4-8

В щелочных средах pH 9-11,5 образуется комплекс желтого цвета ($\lambda_{\text{max}} 416\text{ nm}$), а при pH > 12 он разлагается с депротонированием анионного бис-комплекса:

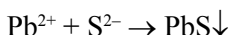


Испытание на соли цинка основано на образовании белого осадка при взаимодействии с раствором гексацианоферрата (II) калия:



Обнаружению мешают ионы железа (III), которые в этих условиях дают синее окрашивание. Поэтому их вначале осаждают раствором аммиака.

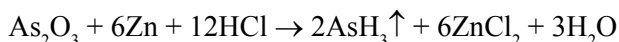
Испытание на соли тяжелых металлов основано на образовании в уксуснокислой или нейтральной среде черного осадка или бурой окраски раствора при взаимодействии с сульфид-ионами:



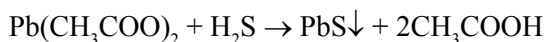
3.6.4. Обнаружение примеси мышьяка

В ГФ приведено два способа определения примеси мышьяка в ЛВ.

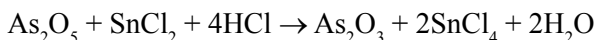
Способ 1 основан на реакции Зангера-Блека и осуществляется путем восстановления соединений мышьяка (III) цинком (в присутствии хлороводородной кислоты) в специальном приборе до арсина:



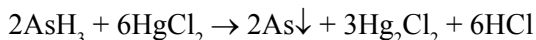
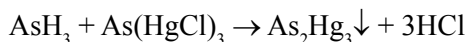
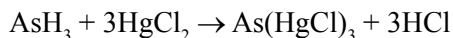
Арсин, проходя через слой ваты, пропитанной уксусом свинца, освобождается от возможной примеси сероводорода:



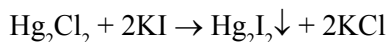
Предварительно дихлорид олова восстанавливает соединения мышьяка (V) до (III):



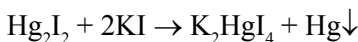
Затем арсин, соприкасаясь с бумагой, пропитанной раствором дихлорида ртути, окрашивает ее в зависимости от концентрации мышьяка в оранжевый или желтый цвет. Последовательно происходят реакции:



Повысить предел чувствительности реакций с 0,001 мг до 0,0005 мг (0,5 мкг) можно, если обработать бумагу раствором иодида калия. Происходит взаимодействие дихлорида ртути (I) с иодидом калия:

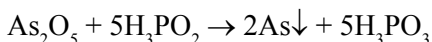
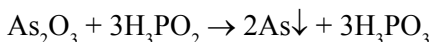
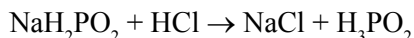


Окраска усиливается за счет образования металлической ртути:



Недостаток способа 1 состоит в невозможности обнаружения примеси мышьяка в присутствии соединений сурьмы, фосфора, солей тяжелых металлов, сульфид- и сульфит-ионов.

Способ 2, основанный на реакции Буго-Тиле, не имеет этого недостатка, но реакция менее чувствительна (0,01 мг). Сущность реакции обусловлена восстановительными свойствами натриевой соли фосфорноватистой кислоты (гипофосфита натрия), которая восстанавливает соединения мышьяка, окисляясь при этом до фосфористой кислоты. В зависимости от содержания примеси соединений мышьяка появляется бурое окрашивание или бурый осадок:



Испытание выполняют в пробирке, в которую вносят навеску испытуемого ЛВ, реактив и нагревают в кипящей водяной бане 15 мин. После охлаждения прибавляют 3 мл воды, 5 мл эфира, тщательно взбалтывают. При наличии примеси соединений мышьяка на границе слоев жидкостей образуется бурая пленка (осадок мышьяка). Этот способ применим также для определения селена и теллура.

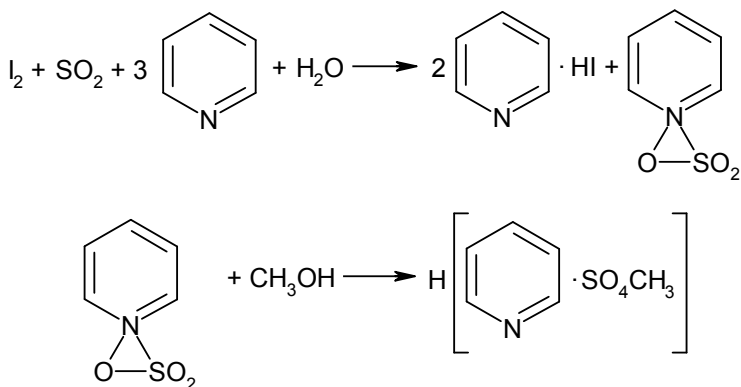
3.6.5. Определение воды и летучих веществ

В ГФ включены два физических метода (высушивания и дистилляции) и один химический (акваметрия) метод определения воды. Метод высушивания заключается в установлении разности массы ЛВ или лекарственного сырья до и после высушивания (условия высушивания, температура и навеска указываются в ФС). Открытый бюкс вместе с крышкой охлаждают в эксикаторе в течение 50 мин и взвешивают.

Второй метод определения воды основан на свойстве двух несмешивающихся жидкостей (например, воды и толуола) пере-

гоняться при более низкой температуре, чем каждая из этих жидкостей. Определение выполняют в специальном приборе. Затем содержание воды устанавливают по ее объему в приемнике после окончания перегонки и охлаждения.

Акватметрия, или метод титрования реактивом Фишера, состоит в определении в ЛВ как гигроскопической, так и кристаллизационной воды реактивом, включающим раствор диоксида серы, иода и пиридина в метаноле. Определение выполняют в закрытой системе, чтобы исключить влияние атмосферной влаги. Взаимодействие реактива с водой протекает по схеме:



Недостатками метода, кроме необходимости соблюдения герметичности, является невозможность его использования в присутствии веществ, реагирующих с компонентами реактива (альдегиды, кетоны, меркаптаны, сульфиды, оксиды, гидроксиды, карбонаты металлов и др.).

3.6.6. Установление pH среды

Величина pH дает важную информацию о степени чистоты ЛВ (содержании в нем примесей кислотного и основного характера). В ряде ФС рекомендуется устанавливать кислотность или щелочность путем нейтрализации примесей кислот или щелочей в водном растворе или экстракте. Нейтрализацию проводят в присутствии индикаторов (фенолфталеин, тимолфталеин, метиловый красный и др.). О кислотности или щелочности судят либо по окраске индикатора, либо по ее изменению, либо по количеству кислоты или щелочи, затраченных на нейтрализацию.

В большинстве случаев ФС (ФСП) регламентирует величину рН среды раствора. Это значение, ориентировочно до 0,3 единицы рН, можно установить с помощью индикаторной бумаги или универсального индикатора. Более объективные результаты дают колориметрический и потенциометрический способы. Для колориметрического определения готовят серию буферных растворов, отличающихся друг от друга на величину рН, равную 0,2. К каждому из них добавляют по 2-3 капли индикатора. Аналогично поступают с испытуемым раствором, который готовят в тех же условиях. Затем сравнивают его окраску с приготовленной серией буферных растворов и устанавливают рН среды.

Потенциометрическое определение рН выполняют на потенциометрах или рН-метрах различных марок после предварительной их настройки с помощью буферных растворов. Этот метод отличается более высокой точностью, имеет меньше ограничений, может быть применен в присутствии окислителей, восстановителей, в окрашенных и мутных растворах.

3.6.7. Испытания на чистоту по физическим и химическим свойствам

Прозрачность и степень мутности. Прозрачными считают растворы, при освещении которых шаровой электролампой (40 Вт) на черном фоне не наблюдается присутствие нерастворенных частиц. Степень мутности устанавливают путем сравнения в одинаковых пробирках растворов испытуемого вещества с растворителем или с эталонами. Эталонами служат взвеси в воде, полученные смешиванием определенных количеств 1% раствора гидразина сульфата и 10% раствора гексаметилентетрамина.

Окраску жидкостей по ГФ XI устанавливают, сравнивая испытуемые растворы с равным количеством одного из семи эталонов при дневном освещении на матово-белом фоне. Эталоны готовят, смешивая в различных соотношениях четыре основных раствора, получаемых из исходных растворов хлорида кобальта, дихромата калия, сульфата меди (II) и хлорида железа (III). Растворителем служит раствор серной кислоты (0,1 моль/л). Бесцветными считают растворы, цвет которых не отличается от воды.

Адсорбционную способность и дисперсность устанавливают в соответствии с требованиями ФС (ФСП). Дисперсность можно установить по скорости осаждения водной суспензии испытуемого

ЛВ в мерном цилиндре. Адсорбционную способность – по обесцвечиванию окраски индикатора (метиленового синего) в растворе ЛВ с определенной концентрацией и в определенном объеме.

Примесь органических веществ обнаруживают действием концентрированной серной кислоты. При этом образуются окрашенные продукты, интенсивность окраски которых не должна превышать соответствующий эталон цветности.

Примесь восстанавливающих веществ в ЛП устанавливают по обесцвечиванию растворов перманганата калия (определенного объема и концентрации).

Примесь окрашенных веществ определяют по бесцветности водного извлечения. Обнаруживают также примесь водорастворимых солей в ЛВ, нерастворимых в воде, и примеси, нерастворимые в воде, в водорастворимых ЛВ (по эталону мутности).

3.6.8. Определение золы

Общую золу устанавливают прокаливанием навески ЛВ в фарфоровом (платиновом) тигле при слабом красном калении (около 500 °С) до постоянной массы. После окончания прокаливания тигель охлаждают в эксикаторе и взвешивают. При последующем добавлении к остатку 15 мл 10% раствора хлороводородной кислоты и нагревании в течение 10 мин на кипящей водяной бане, отфильтрованный осадок вновь сжигают, прокаливают, охлаждают и взвешивают, определяя содержание золы, нерастворимой в хлороводородной кислоте.

Сульфатную золу определяют после нагревания и прокаливания навески ЛВ, смоченной 1 мл концентрированной серной кислоты. Нагревают осторожно на сетке или песчаной бане до удаления паров серной кислоты, а затем прокаливают до постоянной массы, которую устанавливают, охлаждая в эксикаторе и взвешивая тигель. Во многих ФС (ФСП) предусмотрено последующее определение в сульфатной золе примесей тяжелых металлов.

3.6.9. Испытание на специфические примеси

К числу специфических примесей относят присущие только определенному ЛВ исходные или промежуточные продукты синтеза, продукты разложения, сопутствующие биологически активные вещества (алкалоиды, гормоны, белки, полисахариды и др.). Они могут влиять на фармакологический эффект или оказывать

токсическое действие. Несмотря на многообразие химической структуры специфических примесей, для их обнаружения используют несколько основных способов:

1. Использование специфической примеси в качестве эталона и фотометрическое или нефелометрическое определение ее содержания по отношению к этому эталону.

2. Использование способов, основанных на избирательном взаимодействии примеси с каким-либо реактивом и последующее ее определение.

3. Экстрагирование (отделение) примеси с помощью несмешивающихся растворителей (вода-эфир), отгонка растворителя и гравиметрическое, титриметрическое или фотометрическое ее определение.

4. Разделение и исследование примесей с помощью хроматографических методов (ТСХ, бумажная хроматография).

5. Испытания на чистоту, основанные на использовании ВЭЖХ, ГЖХ и их сочетания с другими методами (спектрофотометрия, масс-спектрометрия, полярография).

3.7. Общие принципы оценки качества лекарственных форм

3.7.1. Классификация лекарственных форм и особенности их анализа

Для фармацевтического анализа важное значение имеет агрегатное состояние ЛФ. От него зависят отбор пробы и подготовка ее к выполнению анализа. ЛФ по агрегатному состоянию классифицируют на твердые (порошки, таблетки, суппозитории, драже, гранулы и др.); жидкие (истинные и коллоидные растворы, суспензии, эмульсии, сиропы, капли, линименты и др.); мягкие (мази, гели, кремы, капсулы и др.); газообразные (аэрозоли, газы).

Лекарственные формы могут содержать одно, два, три и более ЛВ. Поэтому различают одно-, двух-, трех-, четырех- и т.д. компонентные лекарственные смеси. Используют также термин многокомпонентные лекарственные формы, если в них содержится несколько ЛВ.

При оценке качества выполняют испытания на подлинность и количественное определение каждого из ЛВ, входящих в состав ЛФ.

Анализ однокомпонентных лекарственных форм. При выполнении испытания подлинности ЛВ, содержащихся в однокомпонентных ЛФ, обычно используют те же химические реакции, что и для соответствующих субстанций.

Испытанию на чистоту подвергают, как правило, только растворы для инъекций. Устанавливают прозрачность и окраску (цветность) раствора, рН среды или щелочность (кислотность) растворов, а также допустимые пределы примесей тяжелых металлов. *Наиболее потенциально опасным путем поступления тяжелых металлов в организм человека и животных являются различного рода инъекции.* Поэтому необходимо устанавливать допустимые нормы содержания тяжелых металлов и вводить их в ФС (ФСП) на инъекционные ЛФ, в том числе плазмозамещающие растворы, средства для парентерального питания.

Сложность выполнения количественного анализа зависит от числа компонентов, входящих в состав ЛФ. Большинство применяемых в медицине и ветеринарии жидких ЛФ содержит одно ЛВ. Но и в таких растворах возможно образование продуктов взаимодействия между ЛВ и растворителем, что нельзя не учитывать при выполнении анализа. Иногда жидкие ЛФ содержат, кроме ЛВ, различные стабилизаторы (сульфит, гидросульфит натрия), антибактериальные добавки (бензойная кислота), т. е. представляют собой растворы нескольких компонентов.

При анализе таблеток, драже, гранул, линиментов, мазей, пилюль, капсул, включающих даже одно ЛВ, как правило, его предварительно отделяют от основы или наполнителя.

Анализ многокомпонентных лекарственных форм. Характерная особенность анализа многокомпонентных ЛФ заключается в том, что способы определения индивидуальных веществ не дают положительных результатов при использовании их для анализа смесей. Поэтому вначале необходимо выбрать условия, позволяющие анализировать одно ЛВ в присутствии другого, или предварительно отделить их друг от друга и от вспомогательных веществ. При этом следует иметь в виду, что каждый из компонентов смеси характеризуется определенными физическими и химическими свойствами. Они могут вызывать различные процессы взаимодействия (например, явления адсорбции, гидролиза и т.д.). Все это усложняет процесс количественного определения компонентов.

Сложной операцией является разделение ингредиентов, содержащихся в ЛФ, и выделение индивидуальных ЛВ. Для этого необходимы различные (нередко трудоемкие) методы экстракции и разделения. Поэтому там, где это, возможно, стремятся использовать методики, позволяющие анализировать компоненты смеси при совместном присутствии.

Если положительных результатов получить не удастся, то необходима предварительная полная экстракция ЛВ с последующим его количественным определением.

Таким образом, независимо от агрегатного состояния как однокомпонентные, так и многокомпонентные ЛФ имеют свои специфические особенности качественного и количественного анализа.

Анализ готовых лекарственных форм (ГЛФ). Приготовленные на заводах медицинской промышленности ЛФ называют готовыми лекарственными формами (ГЛФ). Контроль их качества осуществляют в соответствии с требованиями нормативной документации (ГФ, ФС, ФСП). Построение и изложение содержания ФС на ЛФ осуществляются в строгом соответствии с ОСТ 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств».

В заглавии ФС дается наименование ЛФ на латинском и русском языках. Разделы ФС даются в такой последовательности: состав; описание; растворимость; подлинность; прозрачность и цветность; предел кислотности, щелочности или рН; сухой остаток; содержание спирта; температура кипения; плотность; показатель преломления; угол вращения; вязкость; определение воды; тяжелые металлы; количественное определение; методы контроля; упаковка; маркировка; транспортирование; хранение; срок годности. Отдельные разделы могут совмещаться, а в случае необходимости могут вводиться другие разделы (испытание на токсичность, пирогенность, стерильность и т.д.).

Большинство разделов ФС на ЛФ по своему объему и содержанию мало отличаются от соответствующих разделов ФС на ЛВ. Но есть и некоторые характерные особенности. Главная из них заключается в том, что подавляющее большинство ЛФ представляют собой многокомпонентные системы. Они либо содержат два или несколько ЛВ, либо одно ЛВ в сочетании с различными по химической структуре вспомогательными веществами. Перед приготовлением ЛФ все указанные компоненты подвергаются испытаниям в соответствии с требованиями НД. В процессе получения и хране-

ния они могут претерпевать различные физические и химические превращения, как под влиянием внешних факторов, так и в результате взаимодействия друг с другом. Вот почему разрабатываются нормативные требования к качеству ЛФ, в том числе к ГЛФ.

В ГФ приведены общие статьи на ЛФ. В них описаны основные требования к качеству ЛФ, даны указания по проведению испытаний различных характеристик и параметров, указаны допустимые нормы отклонений массы, объема, размеров частиц и др. Здесь же указаны требования к упаковке, маркировке и по хранению ЛФ.

Впервые в ГФ XI включены требования к однородности дозирования сухих ЛФ, имеющих массу 0,05 г и менее (таблетки, капсулы). Это испытание позволяет установить однородность содержания ЛВ в одной таблетке (капсуле). Такие испытания необходимы, т.к. в процессе получения ЛФ фактическое его содержание в одной дозе может колебаться в зависимости от соблюдения технологии, в том числе таких процессов, как перемешивание, приготовление гранулятов, таблетирование и др. Особенно важен контроль однородности дозирования в детских ЛФ и ЛФ для животных. Методики этих испытаний описаны в ГФ XI вып. 2 (с. 136–162).

Анализ гомеопатических лекарственных средств. Трудности оценки качества гомеопатических лекарственных средств обусловлены высокими разведениями. В результате чувствительность используемых в фармацевтическом анализе химических и даже физико-химических методов оказывается недостаточной для обнаружения и определения ЛВ, входящих в состав ряда гомеопатических средств.

Если биологически активное вещество содержится в настойках, эссенциях, мазях, суппозиториях, оппodelьдоках в разведении до 2C (2-сотенное, или 0,0001), то их анализ и стандартизация практически не отличаются от контроля качества ЛФ, используемых в аллопатической практике. ЛС в разведении 2C–3C (10^{-4} – 10^{-6}) анализируют после проведения специальных приемов концентрирования с помощью упаривания, сжигания содержащихся в них ЛВ, с последующим определением одним из физико-химических методов исходя из его разрешающей способности. При более чем 3C-разведении (10^{-6}) достаточно установить подлинность ЛВ, содержащегося в одной разовой или суточной дозе. При очень высоких разведениях, до 50C (10^{-100}), контроль качества гомеопатического средства существующими методами выполнить невозможно. Для

таких ЛС контроль качества осуществляют на стадии получения, строго контролируя технологический процесс. Качество контролируют при закладке ингредиентов и фиксируют в акте загрузки. Каждый ингредиент подвергают предварительному анализу. Во всех перечисленных случаях для анализа и стандартизации, гомеопатических ЛС используют хроматографические (ГЖХ, ВЭЖХ), фотометрические, флуоресцентные и другие методы.

3.7.2. Методы анализа однокомпонентных лекарственных форм

Во всех фармакопеех мира важное место отведено анализу ЛФ. Около 30% частных ФС содержат требования к качеству инъекционных растворов, таблеток, драже, мазей, присыпок. Подавляющее большинство из них включает одно ЛВ. Систематизация сведений об испытаниях подлинности и количественном определении однокомпонентных ЛФ позволяет сделать заключение об общих принципах оценки их качества.

Испытания на подлинность выполняют, как правило, с помощью химических реакций, указанных в ФС на индивидуальные вещества, входящие в состав жидких и сухих ЛФ. Некоторые ЛВ предварительно извлекают из ЛФ органическими растворителями, а затем выполняют испытания. Иногда раствор жидкой ЛФ выпаривают досуха, а затем с остатком выполняют одно или несколько испытаний на подлинность. Растворы солей органических оснований, как правило, предварительно нейтрализуют щелочами, а затем основания извлекают органическими растворителями.

Таблетки и драже перед испытанием на подлинность растирают в порошок, взбалтывают с водой или другим растворителем (этанолом, эфиром, хлороформом, ацетоном, бензолом, раствором хлороводородной или уксусной кислоты, раствором аммиака или гидроксида натрия) и фильтруют. Затем с фильтратом выполняют испытания на подлинность, используя реакции, рекомендуемые ГФ (ФС) для данного ЛФ. При плохой растворимости процесс экстракции выполняют при нагревании до определенной температуры. Иногда реактив добавляют непосредственно к порошку растертых таблеток или извлекают ЛВ и выполняют испытания с остатком (после удаления органического экстрагента).

Из мазей ЛВ предварительно экстрагируют эфиром, кислотой или другим растворителем. Для этого мазь обрабатывают разведенной серной, хлороводородной или уксусной кислотой при пе-

ремешивании и нагревании на водяной бане, затем охлаждают и фильтруют. Фильтрат испытывают с помощью химических реакций на соответствующие ионы или функциональные группы.

Масляные растворы перед выполнением испытаний растворяют в бензоле, петролейном эфире, хлороформе или ЛВ извлекают смесью растворителей. Подлинность извлеченного ЛВ подтверждают либо по температуре плавления (самого ЛВ или его производного), либо цветными или осадочными реакциями, либо с помощью тонкослойной хроматографии.

Для испытания подлинности таблеток ГФ (ФС) рекомендует использовать спектрофотометрию в ИК- или УФ-области. Из порошка растертых таблеток или драже извлекают ЛВ (водой или другим растворителем). Затем измеряют УФ-спектр и устанавливают наличие максимума поглощения при определенной длине волны или оптическую плотность в максимуме поглощения либо рассчитывают значения отношений оптических плотностей при различных максимумах. Более объективна идентификация ЛВ путем сравнения с ИК-спектрами стандартных образцов.

Количественный анализ однокомпонентных ЛФ выполняют в несколько этапов.

Отбор пробы и взятие навески. При анализе твердых (таблетки, драже, гранулы) и жидких (растворы, сиропы) ЛФ обычно руководствуются общими правилами отбора проб. Вначале отбирается необходимое количество таблеток (драже) или жидкости. Оно должно быть достаточным для того, чтобы результаты анализа были точными для всей ЛФ. Затем после перемешивания или растирания отвешивают навеску. Процесс растирания необходим для получения гомогенной массы, в которой ЛВ было бы равномерно распределено во всем объеме пробы. Не подвергают растиранию только таблетки, покрытые оболочкой, и драже. ЛВ в них распределено неравномерно, и колебания в массе отдельных таблеток будут значительно влиять на результаты определения. Количественный анализ таких лекарственных форм проводят из определенного числа таблеток (драже).

Подготовка лекарственной формы к анализу. На этом этапе проводят растворение (иногда с нагреванием). Растворяют навеску в мерной колбе, доводят растворителем до метки и отбирают аликвотную часть для выполнения измерения. Выбор растворителя осуществляется с учетом растворимости ЛВ и других компонентов

ЛФ, а также используемого метода количественного определения. Так, например, при использовании кислотно-основного титрования в неводной среде органических оснований в качестве растворителя используют безводную уксусную кислоту. Для растворения жидких ЛФ чаще всего применяют воду, а масляных растворов – этиловый и метиловый спирты, бензол, петролейный эфир.

Извлечение лекарственного вещества из лекарственной формы. Извлечение ЛВ осуществляют для более правильной и точной оценки его содержания в ЛФ. Данный этап является неизбежным, когда в ЛФ присутствуют ингредиенты, мешающие количественному определению ЛВ. Поэтому необходимо либо выделять индивидуальное ЛВ, либо отделять мешающие компоненты. Для разделения компонентов ЛФ используют различные способы: фильтрование, центрифугирование, экстракцию, а также экстракцию в сочетании с отгонкой. Наиболее часто для отделения ЛВ применяют фильтрование. К экстракционным методам можно отнести извлечение ЛВ или продуктов его превращения (органического основания, комплекса или ионного ассоциата). Для разделения используют также экстракцию в сочетании с бумажной хроматографией или ТСХ.

Создание условий, необходимых для выполнения определения. После проведения предыдущих операций возможно определение ЛВ с помощью титриметрических или физико-химических методов. Однако чаще всего необходимо дополнительное создание специальных условий. Они диктуются, прежде всего, методом, с помощью которого проводят количественную оценку ЛВ в данной ЛФ. Для комплексонометрии – это создание необходимого рН среды; для метода нейтрализации в неводных средах – добавление ацетата ртути (II) при определении галогеноводородных солей органических оснований; при использовании броматометрии или нитритометрии – добавление в реакционную смесь бромида калия и создание кислой среды и т.д. Иногда необходимо извлечение продукта взаимодействия определяемого вещества с титрантом или температурный режим для предупреждения процесса его гидролиза. Для получения практически нерастворимых осадков при использовании гравиметрического метода применяют органические или неорганические реактивы. Добавление реактивов необходимо и при проведении фотоколориметрического определения ЛВ в ЛФ.

Выполнение измерений по определению содержания лекарственного вещества. Количественный анализ может быть осуществлен гравиметрическим, титриметрическими, физико-химическими и биологическими методами.

Гравиметрический метод в анализе лекарственных форм применяют редко, поскольку он весьма трудоемок и длителен во времени.

Титриметрические методы используют наиболее часто для количественной оценки ЛВ в ЛФ. Возможность применения титриметрических методов определяется следующими основными факторами: доступностью способов установления точки эквивалентности; дозировкой ЛВ в ЛФ (при малых дозах из-за низкой чувствительности метода необходимы слишком большие навески); влиянием растворителей, наполнителей, стабилизаторов, консервантов и т.д. Эти ограничения послужили главной причиной того, что нередко для количественного определения ЛВ в ЛФ используют не тот метод, который рекомендует ФС для той же субстанции.

Иногда титриметрические методы нецелесообразно применять из-за их низкой чувствительности. Так, для получения достаточно точных результатов (при условии расхода 20 мл 0,1 М раствора титранта) необходимо брать на анализ очень большие количества ЛФ: около 500 мл раствора платифиллина гидротартрата для инъекций 0,2%; 670 мл раствора атропина сульфата для инъекций 0,1%; 1500 мл раствора скополамина гидробромида для инъекций 0,05%; 40 таблеток резерпина (по 0,1 мг). В этих случаях титриметрические методы заменены более чувствительными физико-химическими методами определения ЛВ в ЛФ.

Фотометрические (спектрофотометрия, фотоколориметрия) методы чаще всего применяют для определения малых количеств ЛВ в ЛФ. Наибольшее число методик приходится на долю ЛФ, содержащих такие группы биологически активных веществ и их синтетических аналогов, как антибиотики, гормоны, витамины и др.

Экстракционно-фотометрическим методом анализируют ЛФ, содержащие ЛВ, представляющие собой органические основания и их соли. В качестве реактивов используют пикриновую кислоту, тропеолиновые и другие красители. Образующиеся окрашенные продукты извлекают органическим растворителем (чаще всего хлороформом) и измеряют оптическую плотность полученного экстракта.

Для количественной оценки содержания некоторых алкалоидов в растворах для инъекций используют турбидиметрию, кордиами-на и глюкозы в растворах, а также ЛФ, изготовленных в аптеке – рефрактометрию.

Биологические методы используют для количественной оценки в ЛФ некоторых сердечных гликозидов. Микробиологически определяют активность ряда антибиотиков.

3.7.3. Методы анализа многокомпонентных лекарственных форм

3.7.3.1. Качественный анализ

Трудности в идентификации многокомпонентных ЛФ состоят в том, что один ингредиент может мешать обнаружению другого или реактив одновременно реагирует с двумя или несколькими компонентами смеси. Это происходит в случае отсутствия специфических реакций на каждый из компонентов. Вместе с тем одни компоненты смеси могут способствовать открытию других. Поэтому в отличие от анализа однокомпонентных ЛФ возможны следующие варианты идентификации ЛВ при совместном присутствии.

1. Для идентификации подобраны специфические реакции (на ионы или функциональные группы), при выполнении которых обнаружению одного компонента не мешает присутствие другого.

2. Использован реактив, который последовательно реагирует вначале с одним компонентом, затем с другим. *Например, раствор формальдегида в концентрированной серной кислоте при обнаружении кодеина в смеси с кислотой ацетилсалициловой вначале образует сине-фиолетовое (кодеин), а затем красное окрашивание (кислота ацетилсалициловая).*

3. Реактив взаимодействует с обоими компонентами, но продукты взаимодействия легко можно разделить. *Примером может служить анализ смеси натрия бензоата и натрия салицилата при воздействии раствором сульфата меди в присутствии хлороформа. Хлороформный слой приобретает голубое окрашивание (бензоат-ион), водный – зеленое (салицилат-ион).*

4. Один из компонентов ЛФ в присутствии реактива дает цветную реакцию на другой компонент. *Так можно обнаружить первичные ароматические амины реакцией азосочетания, если в смеси присутствует резорцин (отпадает необходимость в добавлении β-нафтола).*

5. При добавлении реактивов вначале обнаруживают один компонент, а затем последовательно открывают остальные. Примером может служить обнаружение бензокаина в смеси с натрия гидрокарбонатом и метамизолом-натрия реакцией образования азокрасителя. *После прибавления хлороводородной кислоты выделяются пузырьки газа (гидрокарбонат-ион), при последующем добавлении раствора нитрита натрия появляется быстро исчезающее синефиолетовое окрашивание (метамизол-натрий) и, наконец, от добавления щелочного раствора β -нафтола смесь приобретает красный цвет (бензокаин).*

6. Обнаружить один компонент в присутствии других не представляется возможным без предварительного их разделения. Для этой цели используют воду, растворы кислот или щелочей, органические растворители (этанол, эфир, хлороформ). Затем в полученных экстрактах идентифицируют каждый из компонентов.

7. Использование различных видов хроматографии (ВЭЖХ, ГЖХ, ТСХ) для разделения и идентификации компонентов твердых ЛФ. Например, в ТСХ-анализе использование пластинок «Силуфол УФ-254». На них наносят раствор или хлороформное извлечение из ЛФ и раствор стандартного образца. После хроматографирования пятна на хроматограмме проявляют с помощью цветных реакций или УФ-света. Такие методики применимы в анализе многокомпонентных мазей и аэрозолей.

8. При анализе жидких многокомпонентных ЛФ присутствие в них галеновых препаратов (настоек, экстрактов), а также настоев и отваров нередко мешает обнаружению других ингредиентов. Поэтому идентификации должна предшествовать экстракция или разделение компонентов с помощью бумажной, тонкослойной или других видов хроматографии.

3.7.3.2. Количественный анализ

Применение титриметрических методов основано на особенностях физических и химических свойств ингредиентов, входящих в состав ЛФ, причем, чем больше сходства в этих свойствах, тем труднее с достаточной точностью осуществить определение каждого из компонентов. При анализе ЛФ, содержащих три ингредиента и более, редко удается найти единый метод, позволяющий определить все компоненты. Поэтому используют сочетание нескольких методов, основываясь на особенностях таких физических и химиче-

ских свойств ингредиентов, как растворимость, кислотно-основные, окислительно-восстановительные свойства, возможность взаимодействия с различными титрантами и реактивами.

Количественный химический анализ лекарственных веществ в многокомпонентных смесях может быть выполнен без разделения компонентов смеси или после предварительного разделения смеси на отдельные компоненты.

3.7.3.2.1. Количественный анализ без разделения компонентов смеси

Титриметрический анализ лекарственной смеси, включающей два ингредиента и более, можно выполнить без разделения компонентов. Для этого подбирают условия, при которых определение одного компонента не мешает определению других. При этом используют титриметрические методы, основанные на различии свойств веществ, содержащихся в смеси (кисотно-основных свойств, констант комплексообразования, производений растворимости и др.).

Чаще всего применяют методы, основанные на одновременном титровании суммы двух компонентов. Затем количественно определяют содержание одного из этих компонентов, используя методы, основанные на свойствах, присущих только данному веществу. Расчет производят по разности между количеством миллилитров титрантов (одинаковой молярности), затраченных на первое и второе титрование.

Так, при наличии в смеси солей органических оснований (гидрохлоридов, гидробромидов, гидроиодидов) и галогенидов (хлориды натрия, калия) титруют вначале аргентометрически сумму гидрогалогенидов и галогенидов (индикатор бромфеноловый синий), а затем методом нейтрализации определяют связанную кислоту (индикатор фенолфталеин). Содержание галогенида устанавливают по разности.

Один из компонентов может быть определен окислительно-восстановительным методом при отсутствии в смеси других окисляющихся компонентов. Производные фенолов (резорцин) определяют в смесях броматометрическим методом. Если в смеси содержится легко окисляющееся вещество, то фенол вначале экстрагируют эфиром.

Первичные ароматические амины (производные *n*-аминобензойной кислоты, сульфаниламиды) в отсутствие других окисляю-

щихся компонентов избирательно определяют методом нитритометрии. Этим же методом после предварительного гидрирования можно определять нитропроизводные (левомицетин), а после гидролиза – ацетиламинопроизводные (парацетамол).

Комплексонометрию используют тогда, когда один из компонентов смеси представляет собой соль кальция, магния, цинка, ртути или других тяжелых металлов. Если предварительно другим методом была оттитрована смесь солей с одинаковыми анионами, то установленное комплексонометрически количество одной из солей затем вычитают из суммы компонентов.

Кисотно-основное титрование смесей основано на различии констант диссоциации компонентов. Поэтому данный метод используют при наличии в смеси нескольких компонентов с кислотно-основными свойствами. Дифференцированное титрование смесей кислот, оснований или их солей возможно, если константы диссоциации компонентов смеси различаются не менее чем в 1000 раз.

Ступенчатое кислотно-основное титрование, основанное на последовательном определении компонентов смеси в одной пробе с использованием различных индикаторов, применяют при определении компонентов ЛФ, содержащих карбоновые кислоты и их соли в сочетании с барбитуратами или органическими основаниями, аминокислоты в смеси с кислотой аскорбиновой, никотиновой и др.

При наличии в смеси только одного ЛВ, проявляющего кислотные или основные свойства, титрование осуществляют соответственно алкалиметрическим или ацидиметрическим методом. Выбор индикатора зависит от константы диссоциации. Для титрования хлороводородной кислоты используют метиловый красный, аминокaproновой – фенолфталеин, глутаминовой – бромтимоловый синий и т.д. Варьирование индикаторами возможно также в следующих случаях.

1. Если смесь содержит два компонента, значительно различающихся по основности, то используют два разных индикатора и последовательно титруют вначале один, а затем второй ингредиент. Можно подобрать условия определения смесей кислот или оснований, рН растворов которых отличаются друг от друга. При титровании смеси кислот или оснований с различными константами диссоциации вначале титруются более сильные кислоты (основания), затем более слабые.

2. Если один из компонентов смеси представляет собой кислоту, а другой – соль или основание, то в одной навеске вначале титруют кислоту, а затем сумму образовавшейся соли или основания. Расчет выполняют по разности количеств затраченных титрованных растворов кислоты и щелочи.

3. При анализе смеси ЛВ, одно из которых нерастворимо или мало растворимо в воде, используют несмешивающиеся или смешанные растворители (воду и спирт). Подбирая соответствующие растворители и индикаторы, можно последовательно оттитровать два ЛВ, проявляющие кислотные или основные свойства, но имеющие различные константы диссоциации.

4. Методом неводного титрования можно количественно определять без разделения двухкомпонентные ЛФ. Для этого используют два способа. Один из них заключается в титровании каждого ингредиента в том растворителе, в котором проявляются только его кислотные или основные свойства. Так можно определять смеси кислоты и основания, кислоты и соли, основания и соли. Второй способ основан на дифференцированном титровании в одном растворителе обоих ЛВ, имеющих разные константы ионизации. Этим способом титруют смеси оснований с солями и смесь оснований. При титровании в среде ледяной уксусной кислоты можно без разделения последовательно определять смесь более сильного и более слабого органического основания.

5. Последовательное титрование одной навески ЛФ вначале в водной, а затем в неводной среде может быть применено, когда в состав бинарной ЛФ входят слабые основания (пуриновые алкалоиды) и алкалоиды с более сильными основными свойствами. Если ЛФ включает пуриновые алкалоиды и вещества слабокислого характера (барбитураты), то последние определяют алкалиметрическим методом после предварительного извлечения эфиром. Пуриновые алкалоиды в той же навеске определяют в неводной среде – методом неводного титрования.

3.7.3.2.2. Количественный анализ смесей после предварительного разделения компонентов

Разделение смеси с помощью экстракции основано на различии растворимости компонентов в воде и в органических растворителях или на различии кислотно-основных свойств. По этому принципу ЛВ могут быть распределены на группы.

Неорганические вещества, как правило, нерастворимы в органических растворителях. Оксиды металлов нерастворимы в воде, но растворимы в кислотах. Соли большинства неорганических кислот и щелочных, щелочно-земельных и тяжелых металлов (за исключением сульфатов кальция и бария) хорошо растворимы в воде.

Органические кислоты алифатического ряда, оксикислоты, аминокислоты, как правило, растворимы в воде. Ароматические кислоты (бензойная, салициловая, ацетилсалициловая) практически нерастворимы (мало растворимы) в воде и растворимы в органических растворителях.

Соли органических кислот (лимонной, уксусной, молочной, глюконовой, бензойной, салициловой), натриевые соли барбитуратов, сульфаниламидов растворимы в воде и нерастворимы в таких органических растворителях, как хлороформ, эфир.

Все органические основания обычно растворимы в органических растворителях. Некоторые из них мало растворимы или практически нерастворимы в воде. Большинство органических оснований и алкалоидов растворимы в растворах кислот (с образованием солей).

Соли органических оснований хорошо растворимы в воде, этаноле и, как правило, нерастворимы в таких органических растворителях, как эфир, хлороформ. Некоторые из солей органических оснований, в том числе алкалоидов (кокаина гидрохлорид, папаверина гидрохлорид), растворимы и в воде, и в хлороформе.

Фенолы растворимы в щелочах с образованием фенолятов (феноксидов). Простые одноатомные и двухатомные фенолы легко растворимы в воде. Фенолы более сложной химической структуры, как правило, в воде нерастворимы. Некоторые азотсодержащие соединения (сульфаниламиды, алкилуреиды сульфокислот, циклические уреиды) растворимы в щелочах с образованием натриевых солей.

Органические вещества, не образующие солей с кислотами и щелочами (производные сложных эфиров, уретаны, ациклические уреиды, ацетаминопроизводные, терпены), обычно нерастворимы (трудно растворимы) в воде и растворимы в органических растворителях.

Имеются группы органических ЛВ, которые очень мало растворимы и в воде, и в органических растворителях (производные нитрофурана, 4-оксикумарина, урацила).

Различаются по растворимости природные биологически активные вещества. Препараты сердечных гликозидов мало растворимы или практически нерастворимы в воде и в эфире. Практически нерастворимы в воде препараты стероидных гормонов. Большинство из них растворимо в растительных маслах и в этаноле. Витамины по растворимости разделяются на две группы: водорастворимые и жирорастворимые. Антибиотики (левомецитин, феноксиметилпенициллин, гризеофульвин, эритромицин) мало растворимы или практически нерастворимы в воде. Натриевые и калиевые соли антибиотиков, а также их соли с хлороводородной, серной кислотой, как правило, хорошо растворимы в воде, но нерастворимы (мало растворимы) в органических растворителях.

Используя указанное различие в растворимости ЛВ, можно осуществить разделение компонентов ЛФ следующими методами.

1. При наличии в смеси ЛВ, хорошо растворимых в воде и практически в ней нерастворимых, разделение осуществляют обработкой смеси водой с последующим фильтрованием. На фильтре остаются нерастворимые в воде вещества. Так можно отделять от других ингредиентов растворимые в воде неорганические соли, соли органических кислот, соли азотсодержащих органических оснований.

2. ЛВ, растворимые в органических растворителях, не смешивающихся с водой (хлороформ, эфир), можно отделять от ЛВ, нерастворимых в этих растворителях. Разделение выполняют путем экстракции хлороформом или эфиром. Так можно отделять ароматические кислоты и органические основания от солей неорганических и органических кислот, а также от солей органических оснований.

3. ЛВ, растворимые в органических растворителях, можно отделять от некоторых алифатических кислот и производных фенолов. Последние необходимо предварительно действием щелочей превратить в водорастворимые феноксиды (феноляты). Затем растворителем, не смешивающимся с водой (хлороформом или эфиром), извлекают ЛВ, растворимые в этих растворителях.

4. Для отделения ЛВ, растворимых в хлороформе или эфире, от органических оснований последние предварительно нейтрализуют кислотами. Полученные соли оснований остаются в водном растворе.

5. Соли органических оснований можно предварительно превратить в основания путем нейтрализации связанных кислот ще-

лочами. Образующиеся органические основания затем экстрагируют хлороформом или эфиром.

Если, пользуясь описанными методами, удастся количественно разделить компоненты смеси, то каждый из них затем определяют тем или иным титриметрическим методом. При разделении смесей, содержащих три компонента и более, нередко получают двухкомпонентные экстракты веществ с одинаковой растворимостью. Их анализируют методами осаждения или кислотно-основного титрования, последовательно определяя каждый из компонентов.

Следует учитывать, что ЛВ, мало растворимые в воде или в органическом растворителе, частично извлекаются вместе с отделяемым компонентом. Это нередко не дает возможности выполнить количественное разделение смеси. Необходимо также обращать внимание на отсутствие примеси воды в органическом растворителе. Разделение сухих ЛФ таким растворителем приводит к частичной экстракции ЛВ, растворимых в воде.

После извлечения ЛВ органическим растворителем последний обычно вначале удаляют, а затем проводят титрование. Органические основания, в т. ч. основания алкалоидов извлекают из смесей хлороформом. Растворитель отгоняют, остаток растворяют в воде или в этаноле и титруют хлороводородной кислотой, используя индикатор, соответствующий константе диссоциации основания.

Количественное определение методом нейтрализации некоторых смесей, содержащих соли органических кислот и соли органических оснований, выполняют в присутствии органических растворителей (хлороформа, эфира). Последние извлекают выделяющуюся органическую кислоту или органическое основание в процессе титрования. Извлечение необходимо, так как, проявляя кислотные или основные свойства, они могут повлиять на результаты титрования.

Если в смеси содержатся гидрохлорид органического основания и неорганическая кислота, то вначале титруют сумму кислот (связанной и свободной). Затем отдельно титруют хлороводородную кислоту, связанную с органическим основанием, аргентометрическим методом по хлорид-иону. Содержание рассчитывают по разности израсходованных титрованных растворов гидроксида натрия и нитрата серебра одинаковой молярной концентрации.

3.8. Химические методы определения лекарственных веществ

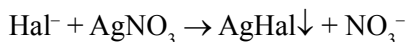
Методики, основанные на использовании химических методов, включены в ОФС и ФС (ФСП). Наиболее широко для количественного определения ЛВ применяют титриметрические методы анализа. Значительно реже используют гравиметрический метод, газометрический метод и элементный анализ.

Гравиметрический метод основан на измерении массы вещества. Сущность определения состоит в последовательном выполнении реакции осаждения, отделении, высушивании и взвешивании осадка. ГФ рекомендует гравиметрию для количественного определения барбитуратов, солей хинина, других ЛВ в виде органических оснований или нерастворимых в воде продуктов реакции (пикратов, кремневольфрамов и др.).

Газометрический метод основан на взаимодействии испытуемого ЛВ с поглотительным раствором, содержащим количественно реагирующие с ним компоненты. Применяют для определения газообразных ЛВ (кислород, оксид азота, циклопропан и др.).

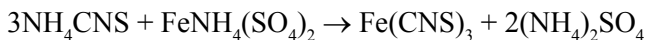
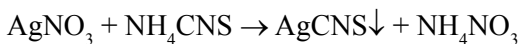
3.8.1. Осадительное титрование

Аргентометрия основана на реакциях осаждения галогенидов (Hal^-) титрованным раствором нитрата серебра:

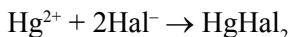


При прямом аргентометрическом титровании используют индикатор хромат калия (метод Мора) или адсорбционные индикаторы (метод Фаянса). При обратном титровании (метод Фольгарда) индикатором служат железоаммониевые квасцы, а избыток нитрата серебра определяют роданометрическим (тиоцианатометрическим) методом.

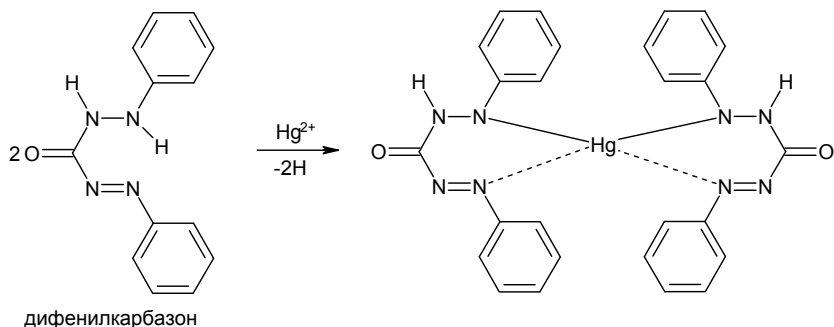
Тиоцианатометрия основана на реакции осаждения иона серебра тиоцианатом аммония (индикатор – железоаммониевые квасцы):



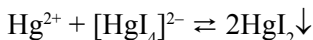
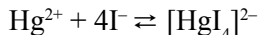
Меркуриметрия основана на образовании малодиссоциированных соединений ртути (II):



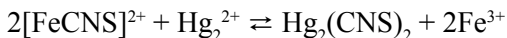
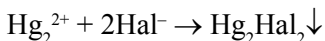
При титровании хлоридов индикатором служит дифенилкарбазид или дифенилкарбазон:



При титровании иодидов конечную точку титрования устанавливают по выпадению красного осадка иодида ртути (II) вследствие разрушения образующегося при титровании тетраиодомеркурат-иона:



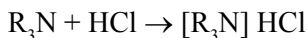
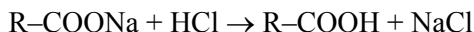
Меркурометрия – метод определения галогенидов, образующих малорастворимые соединения с катионами ртути (I). Титрантом служит раствор $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$, индикатор – тиоцианат железа, который обесцвечивается в точке эквивалентности вследствие образования тиоцианата ртути (I):



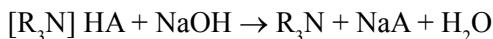
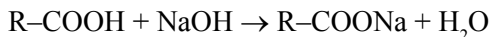
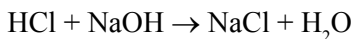
3.8.2. Кисотно-основное титрование (метод нейтрализации)

3.8.2.1. Титрование в водной среде

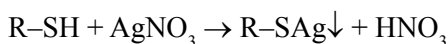
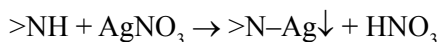
Ацидиметрия используется для определения натриевых (калиевых) солей неорганических и органических кислот, а также органических оснований (R_3N). Титрант – раствор хлороводородной кислоты:



Алкалиметрия используется для определения неорганических и органических кислот, а также солей органических оснований с различными кислотами:

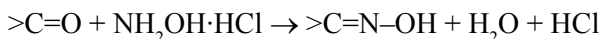


Косвенная (заместительная) нейтрализация основана на реакции осаждения ионами серебра органических оснований, содержащих в молекуле вторичную аминогруппу или меркаптогруппу:

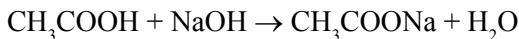
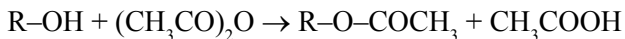


Выделившуюся кислоту титруют алкалиметрическим методом.

Оксимный метод также основан на косвенной нейтрализации эквивалентного количества хлороводородной кислоты, выделившейся при взаимодействии гидроксиламина гидрохлорида с кето-производными:

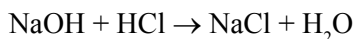
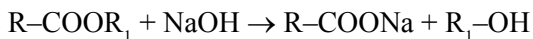


Этерификация в сочетании с алкалиметрией используется при определении спиртов и фенолов. Их ацетилируют уксусным ангидридом, а его избыток гидролизуют до уксусной кислоты, которую затем оттитровывают раствором гидроксида натрия:

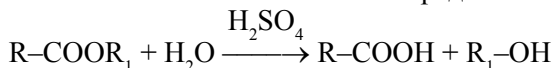


Параллельно выполняют контрольный опыт с тем же количеством уксусного ангидрида.

Гидролиз сложных эфиров в сочетании с ацидиметрией. Сложные эфиры гидролизуют титрованным раствором гидроксида натрия, избыток которого титруют хлороводородной кислотой:



Гидролиз может быть выполнен в кислой среде:



Образовавшуюся при гидролизе органическую кислоту можно извлечь эфиром и оттитровать алкалиметрическим методом.

III.8.2.2. Титрование в смешанных растворителях

Используют в тех случаях, когда ЛВ плохо растворяются в воде или водные растворы имеют слабо выраженные кислотные (щелочные) свойства. Они усиливаются в присутствии этанола (аcetона).

Титрование в воде в присутствии несмешивающихся с ней эфира или хлороформа используют для извлечения органического основания или кислоты из водной фазы, что исключает их влияние на результаты титрования.

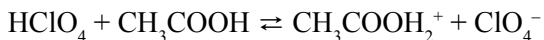
3.8.2.3. Титрование в среде неводных растворителей (неводное титрование)

Метод позволяет количественно определить органические вещества, проявляющие в водной среде очень слабые основные или кислотные свойства. В качестве титрантов используют растворы сильных кислот или сильных оснований.

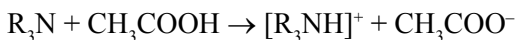
Неводное титрование органических оснований (R_3N) и их солей ($\text{R}_3\text{N}\cdot\text{HA}$) выполняют, используя в качестве растворителей безводные уксусную кислоту, уксусный ангидрид, муравьиную кислоту или их сочетания. Титрантом служит раствор хлорной кислоты, индикаторами – кристаллический фиолетовый, тропеолин 00, метиловый оранжевый.

Титрование слабых органических оснований хлорной кислотой в среде ледяной уксусной кислоты включает несколько этапов:

1. Растворение HClO_4 в ледяной CH_3COOH :



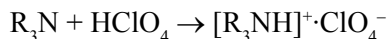
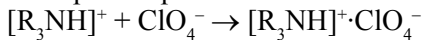
2. Растворение основания (R_3N) в ледяной CH_3COOH :



3. Взаимодействие ацетоний- и ацетат-ионов:

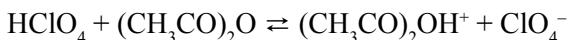


4. Взаимодействие протонированного амина с хлорат-ионом:

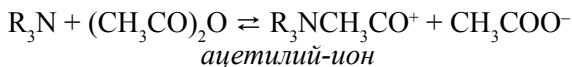


Очень слабые органические основания ($pK > 12$) необходимо титровать хлорной кислотой в среде уксусного ангидрида (УА), т.к. он более активно (чем ледяная уксусная кислота) усиливает основные свойства аминов.

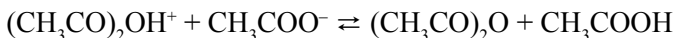
1. Взаимодействие $HClO_4$ с УА:



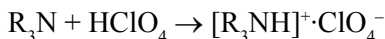
2. Растворение амина (R_3N) в УА:



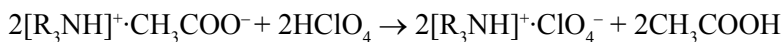
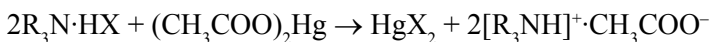
3. Взаимодействие кислоты с основанием:



4. Взаимодействие ацетилий-иона с хлорат-ионом:

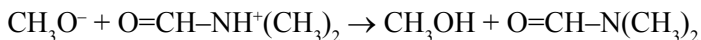
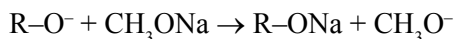
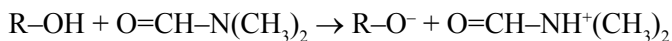


Соли органических оснований с галогеноводородными кислотами ($R_3N \cdot HX$) проявляют кислотные свойства даже в неводной среде. Поэтому их титруют в присутствии ацетата ртути (II), который нейтрализует галогенпроизводную кислоту. Малодиссоциированные галогениды ртути (HgX_2) и $(CH_3COO)_2Hg$ не мешают определению. Образующийся ацетат органического основания оттитровывают хлорной кислотой:

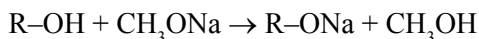


Неводное титрование галогеноводородов может быть выполнено без добавления ацетата ртути, если в качестве протогенных растворителей использовать безводную муравьиную кислоту в присутствии уксусного ангидрида.

Неводное титрование органических веществ, проявляющих кислотные свойства (фенолы, барбитураты, карбоновые кислоты, сульфаниламиды и др.) выполняют, используя в качестве растворителя диметилформамид или его смесь с бензолом. Титрантом служит раствор гидроксида натрия в смеси метанола и бензола или раствор метилата натрия. В качестве индикатора используют тимоловый синий.

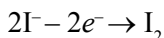
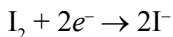


Суммарно процесс нейтрализации фенолов (енолов) можно представить так:

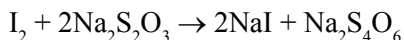


3.8.3. Окислительно-восстановительное титрование

Иодометрия – метод, основанный на окислительных свойствах иода и восстановительных свойствах иодид-ионов:



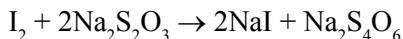
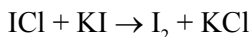
Титрант – раствор иода (индикатор – крахмал) используют для прямого титрования неорганических и органических веществ, способных окисляться или образовывать с иодом продукты присоединения или замещения. Используют также обратное иодометрическое титрование. При этом избыток иода титруют 0,1 М раствором тиосульфата натрия:



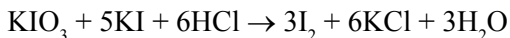
Восстановительные свойства иодида калия используют для количественного определения веществ, обладающих окислительными свойствами. Выделившееся эквивалентное количество иода оттитровывают тиосульфатом натрия.

Используют также сочетание реакции замещения (получение нерастворимых в воде моно-, ди- и трийодпроизводных) и обратной иодиметрии. Иодпроизводные отфильтровывают, а в фильтрате определяют избыток титрованного раствора иода. Аналогичным образом используют реакцию образования полийодидов $[R_3N] \cdot HI \cdot I_4$ органических оснований. При выполнении определения необходимо учитывать влияние pH среды.

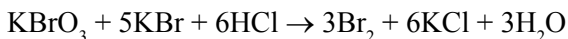
Иодхлорометрия – отличается от иодиметрии использованием в качестве титранта не раствора иода, а более устойчивого раствора иодмонохлорида. Аналогично иоду иодмонохлорид образует иодпроизводные органических оснований. Избыток титранта устанавливают иодометрически:



Иодатометрия основана на окислении органических соединений иодатом калия. Избыток титранта устанавливают иодометрически:

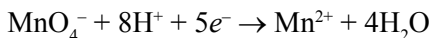


Броматометрия (бромид-броматометрия) основана на использовании окислительных свойств или реакции замещения (получение моно-, ди- или трибромпроизводных) за счет образующегося свободного брома:



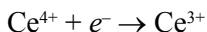
Индикаторами при прямом титровании служат азокрасители, которые обесцвечиваются бромом в эквивалентной точке (метиловый красный). В случае обратного титрования эквивалентную точку устанавливают иодометрически по избытку титранта (бромата калия).

Перманганатометрия основана на использовании окислительных свойств титранта – перманганата калия в кислой среде:

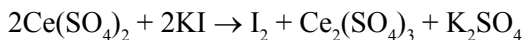


Индикатором при прямом титровании служит сам титрант (появляется розовое окрашивание), а при обратном титровании избыток титранта устанавливают иодометрическим методом.

Цериметрия основана на использовании окислительных свойств титранта – соли церия (IV), который в кислой среде восстанавливается до церия (III):

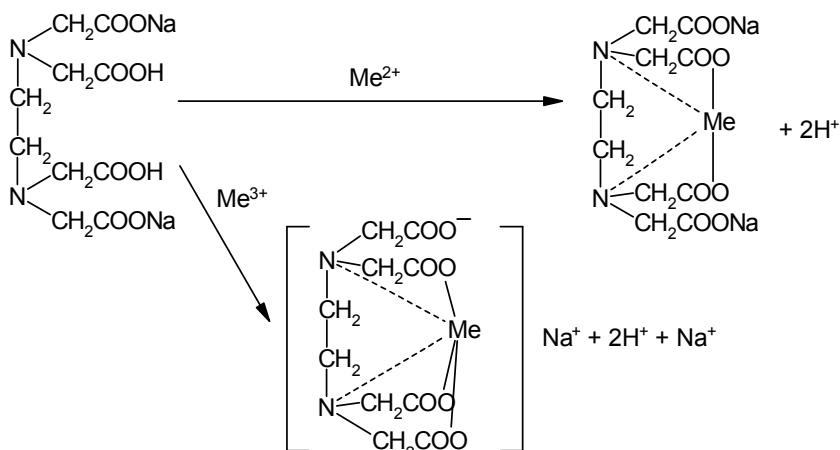


Индикатором служат дифениламин, *o*-фенантролин, а при обратном титровании избыток титранта устанавливают иодометрически:



3.8.4. Комплексонометрия

Метод основан на образовании прочных, растворимых в воде комплексов катионов металлов с трилоном Б – динатриевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты ($\text{Na}_2\text{ЭДТА}$) или другими комплексонами. Независимо от заряда катиона взаимодействие его с титрантом ($\text{Na}_2\text{ЭДТА}$) происходит в стехиометрическом соотношении 1:1:



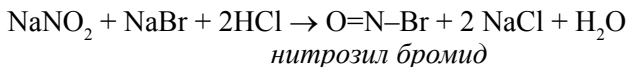
Используют метод для количественного определения неорганических и органических ЛВ, содержащих катионы магния, кальция, цинка, висмута, свинца, алюминия и др. Точку эквивалентности устанавливают с помощью металлоиндикаторов – органических красителей (ксиленоловый оранжевый, пирокатехиновый фиолетовый, кислотный хром темно-синий), образующих с указанными катионами непрочные, ярко окрашенные комплексы. В эквивалентной точке эти комплексы разрушаются до образования свободного индикатора, по окраске которого делают заключение о конце титрования.

Непременным условием комплексонометрии является строгое соблюдение при титровании определенного интервала pH, что до-

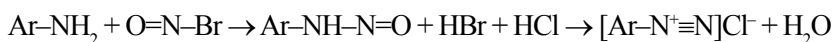
стигается с помощью буферных растворов. Комплексонометрическое титрование может быть выполнено прямым, обратным и косвенным (заместительным) методом.

3.8.5. Нитритометрия

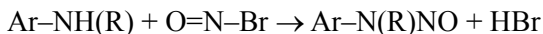
Метод количественного определения первичных и вторичных ароматических аминов, основанный на использовании титранта – раствора нитрита натрия, в присутствии бромида натрия:



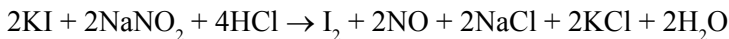
В этих условиях с первичными ароматическими аминами образуются диазосоединения (в кислой среде):



Вторичные ароматические амины в тех же условиях образуют N-нитрозосоединения:



Эквивалентную точку устанавливают различными путями: потенциометрически, с помощью указанных в ФС внутренних индикаторов (тропеолин 00, нейтральный красный), с внешним индикатором (иодкрахмальная бумага). Титрование с иодкрахмальной бумагой ведут до тех пор, пока капля титруемого раствора, взятая через 1 мин после прибавления титранта, не вызовет тотчас же посинение бумаги:



На результаты определения влияют температура (смесь охлаждают до 5-15 °С), концентрация хлороводородной кислоты, природа растворителя.

При использовании внутренних индикаторов наблюдают изменение их окраски в эквивалентной точке.

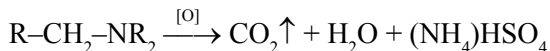
3.8.6. Элементный анализ

3.8.6.1. Определение азота в органических соединениях (метод Кьельдаля)

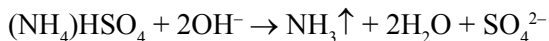
Метод основан на предварительной минерализации азотсодержащего органического соединения до гидросульфата аммония.

Определение выполняют с помощью прибора, состоящего из колбы Кьельдаля, парообразователя, холодильника, приемника. Оно состоит из нескольких стадий.

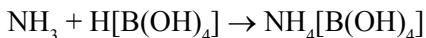
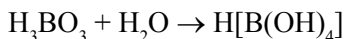
1. Минерализация (нагревание с конц. H_2SO_4):



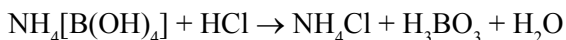
2. Разложение $(\text{NH}_4)\text{HSO}_4$ гидроксидом натрия и отгонка образующегося аммиака в приемник:



3. Взаимодействие NH_3 в приемнике с борной кислотой с образованием тетрагидробората аммония:



4. Титрование отгона 0,1М раствором хлороводородной кислоты:



Параллельно выполняют контрольный опыт (без анализируемого вещества) для повышения точности результатов анализа.

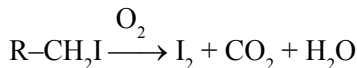
Для определения веществ, содержащих в молекуле амидную группу, используют упрощенный вариант метода Кьельдаля, исключая стадию минерализации. Методика сводится к гидролизу амида в колбе Кьельдаля 30% раствором гидроксида натрия, отгонке выделяющегося аммиака или амина в приемник и титровании его 0,1 М хлороводородной кислотой.

3.8.6.2. Метод сжигания в колбе с кислородом.

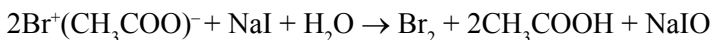
Используется для анализа ЛВ, содержащих в молекуле галогены, серу, фосфор. Сжигание проводят в колбе из термостойкого стекла, наполненной кислородом. В пробку колбы впаяна платиновая или нихромовая проволока, заканчивающаяся спиралью (держатель), в которую помещают точную навеску ЛВ, завернутую в фильтровальную бумагу. На дно колбы наливают поглощающую жидкость. По окончании сжигания колбу оставляют на 30-60 мин, периодически перемешивая. После этого химическим или физико-химическим методом идентифицируют или определяют образовавшиеся ионы.

Так, например, иодсодержащие органические соединения последовательно количественно превращают в иодаты.

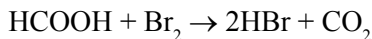
1. Сжигание ЛВ в атмосфере кислорода приводит к окислению до свободного иода, растворяющегося в растворе гидроксида натрия (поглощающая жидкость) с образованием иодида и гипоиодита натрия:



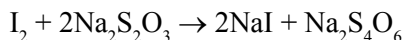
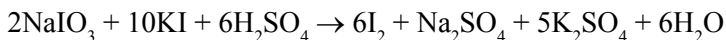
2. Для окисления образовавшихся иодидов до иодатов в колбу вносят раствор ацетата брома до появления желтого окрашивания:



3. Для удаления избытка брома добавляют концентрированную муравьиную кислоту до обесцвечивания раствора:



4. Выдерживают 5 мин в темном месте после добавления иодида калия и раствора серной кислоты, а затем титруют выделившийся иод, содержание которого эквивалентно его количеству в испытуемом ЛВ:



3.9. Физические и физико-химические методы анализа

Физические и физико-химические методы могут быть классифицированы на следующие группы: оптические методы, методы, основанные на поглощении электромагнитного излучения, методы, основанные на испускании излучения, методы, основанные на использовании магнитного поля, электрохимические методы, термические методы, методы разделения.

Физико-химические методы основаны на использовании зависимости физических свойств от химического состава веществ. В большинстве случаев физико-химические методы отличаются быстротой выполнения, избирательностью, высокой чувствительностью, возможностью унификации и автоматизации. Поэтому данная группа методов приобретает все большее значение для объективной оценки качества ЛС, в т.ч. для испытания на подлинность, испытания на чистоту и для количественного определения.

3.9.1. Оптические методы

Рефрактометрия основана на наличии зависимости величины показателя преломления света от концентрации раствора испытуемого вещества. Показатель преломления зависит также от температуры, длины волны света, концентрации вещества и природы растворителя. Рефрактометрию используют для установления подлинности лекарственных веществ по молярной рефракции. Для количественного определения выбирают интервал линейной зависимости между концентрацией раствора и коэффициентом преломления. В этом интервале концентрацию (x) вычисляют по формуле: $x = (n - n_0)/F$, где n – показатель преломления раствора вещества; n_0 – показатель преломления растворителя; F – фактор, равный величине прироста показателя преломления при увеличении концентрации вещества на 1% (устанавливается экспериментально).

Рефрактометрические определения выполняют на рефрактометрах, при стабильной температуре ($20 \pm 0,3^\circ\text{C}$) и длине волны линии D спектра натрия (589,3 нм) в диапазоне показателей преломления от 1,3 до 1,7. Прибор юстируют по эталонным жидкостям или воде очищенной, для которой $n_D^{20} = 1,3330$.

Поляриметрия – метод, основанный на способности вещества вращать плоскость поляризованного света. Эта способность обусловлена наличием в молекулах ассиметрических атомов углерода. Степень отклонения плоскости поляризации от первоначального положения выражается в угловых градусах. Эту величину называют углом вращения (α). Правовращающие вещества вращают плоскость поляризации по часовой стрелке (обозначают “+”), левовращающие – против часовой стрелки (“–”).

Для растворов величина α зависит от природы растворителя, концентрации оптически активного вещества и длины рабочего

слоя кюветы с раствором. Подлинность и чистоту лекарственных веществ подтверждают по величине удельного вращения $[\alpha]_D^{20}$, измеренного при 20°C и длине волны D спектра натрия. Величину $[\alpha]_D^{20}$ для растворов веществ рассчитывают по формуле:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \cdot 100}{\ell \cdot C}$$

где α – измеренный угол вращения, в градусах; ℓ – длина рабочего слоя кюветы, в дециметрах; C – концентрация раствора вещества (г/100 мл).

Количественно определяют (в %) содержание оптически активного вещества в растворе по формуле:

$$C = \frac{\alpha \cdot 100}{[\alpha]_D^{20} \cdot \ell}$$

Величину α измеряют на поляриметрах с точностью до $\pm 0,02^\circ$.

III.9.2. Методы, основанные на поглощении электромагнитного излучения

Используют спектрофотометрические методы анализа по поглощению веществами монохроматического электромагнитного излучения (в УФ- и ИК-области) и фотокolorиметрические (колориметрические) методы анализа по поглощению веществами немонохроматического излучения.

Фотометрические методы анализа основаны на использовании объединенного закона Бугера-Ламберта-Бера:

$$\lg \frac{J_0}{J} = A = x \cdot C \cdot l$$

где J_0 – интенсивность излучения, падающего на вещество; J – интенсивность излучения, прошедшего через вещество; A – величина оптической плотности; x – показатель поглощения данного вещества; C – концентрация раствора анализируемого вещества, г; ℓ – длина рабочего слоя кюветы, см.

На основании этого закона содержание вещества в растворе определяют по формуле:

$$C = \frac{A}{x \cdot \ell}$$

В случае несоответствия закону Бугера-Ламберта-Бера вначале с помощью стандартного раствора устанавливают зависимость оптической плотности от концентрации, а затем строят калибровочный график, с помощью которого выполняют расчеты.

Спектрофотометрия в УФ- и видимой областях – один из наиболее широко используемых физико-химических методов в фармацевтическом анализе.

Анализируемые ЛВ должны иметь в структуре молекулы хромофорные группы (сопряженные связи, ароматическое ядро и др.), обуславливающие различные электронные переходы в молекулах и поглощение электромагнитного излучения.

Кривая зависимости интенсивности светопоглощения от длины волны (нм) называется спектром поглощения вещества и является его специфической характеристикой. Измерение спектров поглощения растворов анализируемых веществ в ультрафиолетовой (190-380 нм) и видимой (380-780 нм) областях производят с помощью спектрофотометров различных марок (СФ-26, СФ-46 и др.). В качестве растворителей используют свободные от примесей воду, растворы кислот и щелочей, этанол, хлороформ и другие органические растворители.

Спектрофотометрической константой является удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$), который рассчитывают по формуле:

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A}{C \cdot l}$$

Удельный показатель поглощения $E_{1\text{см}}^{1\%}$ представляет собой величину оптической плотности раствора, содержащего 1,0 г вещества в 100 мл раствора, измеренную в кювете с рабочей длиной 1 см. Установив по стандартному образцу величину $E_{1\text{см}}^{1\%}$ и преобразовав эту формулу, можно рассчитать концентрацию анализируемого вещества с относительной погрешностью до $\pm 2\%$.

Идентификацию ЛВ можно провести по $E_{1\text{см}}^{1\%}$, характеру спектральных кривых в различных растворителях, положению максимума и минимума светопоглощения или их отношению (при различных длинах волн). Для количественного спектрофотометрического анализа важен выбор аналитической полосы поглощения.

Последняя должна быть свободна от наложения полос поглощения других компонентов смеси и иметь достаточно высокий удельный показатель поглощения анализируемого вещества.

Фотоколориметрия отличается от спектрофотометрического анализа тем, что анализируемое вещество с помощью какого-либо реагента переводят (количественно) в окрашенное соединение. Вначале получают окрашенные растворы, используя растворы стандартных образцов (ГСО или РСО). Измерение оптической плотности производят на фотоколориметрах. Затем строят калибровочный график зависимости интенсивности поглощения окрашенных растворов от концентрации, по которому рассчитывают содержание ЛВ в испытуемых образцах ЛВ или ЛФ.

Метод дифференциальной спектрофотометрии и фотоколориметрии основан на измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего определенное количество стандартного образца испытуемого вещества или его заменителя. Такой прием приводит к изменению рабочей области шкалы прибора и снижению относительной погрешности определения до $\pm 0,5\text{--}1\%$, т.е. сопоставимой с титриметрическими методами.

Производная УФ-спектрофотометрия является одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной – при двух длинах волн, разделенных небольшим интервалом. Этот вариант основан на выделении индивидуальных полос из УФ-спектра, который представляет собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах: производная-длина волны появляются полосы с отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами.

Одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии является **ΔE -метод**. Он основан на превращении одного из веществ, входящих в состав анализируемой пробы, в таутомерную (или

иную) форму, отличающуюся по характеру и интенсивности светопоглощения. Затем измеряют светопоглощение раствора одной таутомерной формы по отношению к другой, т.е. используют в качестве стандарта раствор анализируемого вещества.

Спектрофотометрия в ИК-области. Природа полос поглощения в ИК области связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества. Поэтому поглощением в ИК-области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Область применения ИК-спектроскопии аналогична, но более широка, чем у УФ-метода. ИК-спектр однозначно характеризует всю структуру молекулы, включая незначительные ее изменения. Важные преимущества ИК-спектроскопии – высокая специфичность, объективность полученных результатов, возможность анализа веществ в кристаллическом состоянии. Для измерения ИК-спектров на однолучевых или двухлучевых ИК-спектрофотометрах используют взвеси веществ в вазелиновом масле или помещают анализируемое вещество между пластинами из бромида калия. Каждый ИК-спектр представляет собой серию полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом, измеряемым в см^{-1} , и определенной интенсивностью. Для анализа ЛВ обычно используют спектральную область от 4000 до 400 см^{-1} .

ГФ XI рекомендует два способа установления подлинности по ИК-спектрам. Один из них основан на сравнении зарегистрированных в идентичных условиях ИК-спектров испытуемого ЛВ и его стандартного образца. Второй способ заключается в сравнении ИК-спектра испытуемого ЛВ с его стандартным спектром, прилагаемым к ФС и зарегистрированным в соответствии с указанными в ней требованиями.

Фототурбидиметрия – метод, основанный на измерении интенсивности света, поглощенного тонкодисперсной суспензией, и **фотонепелометрия** – метод, основанный на измерении света, рассеянного взвешенными частицами анализируемого вещества. Оба метода применяют в фармацевтическом анализе для количественного определения ЛВ, образующих с различными реагентами тонкие суспензии. Предварительно устанавливают зависимость между интенсивностью поглощения (рассеяния) света и концентрацией вещества в анализируемом растворе. Способы расчета аналогичны фотометрическим методам.

3.9.3. Методы, основанные на испускании излучения

Атомно-абсорбционная спектрометрия основана на поглощении атомами излучения с частотой, равной частоте резонансного перехода. Излучение исходит от лампы с полым катодом, проходит через пламя, в котором распыляется проба, пропускается через щель монохроматора, и выделенная из спектра резонансная линия определяемого элемента измеряется фотоэлектрическим способом. Затем устанавливается зависимость между ослаблением интенсивности излучения источника света и концентрацией испытуемого вещества.

Флуоресцентные методы основаны на способности веществ флуоресцировать в УФ-свете, обусловленной либо химической структурой самих органических веществ, либо продуктов их диссоциации, сольволиза, других превращений. Способностью флуоресцировать обладают обычно органические соединения с симметричной структурой молекул, в которых имеются сопряженные связи (нитро-, нитрозо-, азо-, амидные, карбонильные или карбоксильные группы).

Флуориметрия используется не только для установления подлинности, но и определения малых количеств веществ, т.к. интенсивность флуоресценции имеет линейную зависимость от концентрации. Линейная зависимость сохраняется при постоянстве квантового выхода и интенсивности возбуждающего света для низких концентраций веществ. При высоких концентрациях эта зависимость нарушается. Идентификацию проводят по цвету излучаемого света, специфичного для флуоресцирующих веществ. Спектр дает широкие полосы излучения (от 100 до 200 нм). Метод отличается очень высокой чувствительностью. Количественное определение выполняют на спектрофлуориметрах. Расчет концентрации производят с помощью калибровочного графика или шкалы стандартных растворов, аналогично фотометрическим методам.

3.9.4. Методы, основанные на использовании магнитного поля

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) – метод, основанный на регистрации индуцированных радиочастотным полем переходов между ядерными магнитными энергетическими уровнями молекул вещества, помещенного в магнитное поле. Метод позволяет изучать магнитные переходы ядер со спиновыми квантовыми числами больше нуля (ядра ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P).

Совокупность сигналов переходов между энергетическими уровнями ядер молекул составляет спектр ЯМР. Каждый спектр ЯМР регистрируется для одного типа ядер и специфичен для каждого вещества. Чаще всего используют спектроскопию на протонах (ПМР) и ЯМР ^{13}C .

Спектры регистрируют при помощи ЯМР-спектрометров. Каждый спектр является отражением числа ядер, порядка их связи и геометрии расположения ядер в молекуле. Спектр представляет собой совокупность пиков с различной шириной, площадью и интенсивностью сигналов. По характеру протонных сигналов можно сделать заключение о наличии в молекуле тех или иных групп атомов. Величина химического сдвига имеет порядок 10^{-6} или млн^{-1} (миллионная доля). Она зависит от наличия в молекуле тех или иных групп, например, химический сдвиг у ароматических протонов находится в интервале $7\text{--}9 \text{ млн}^{-1}$, альдегидных – $9\text{--}10 \text{ млн}^{-1}$ и т.д.

Метод ЯМР- и ПМР-спектроскопии используют для объективной идентификации органических ЛВ и для количественного определения относительного содержания вещества или примеси. Подлинность может быть подтверждена либо путем сравнения со стандартным образцом, либо по наиболее характерным сигналам спектра, либо по полному набору спектральных параметров.

Масс-спектроскопия – метод, позволяющий определить массу ионов, ионизированных молекул или фрагментов молекул по отклонению в магнитных и электрических полях или по кинетической энергии. Ионизация молекул происходит в результате воздействия пучка электронов. Интенсивность пика в масс-спектре пропорциональна числу образовавшихся ионов данного вида. Состав и массовые числа характеристических ионов позволяют установить принадлежность исследуемого соединения к определенному классу веществ, осуществить его идентификацию. Масс-спектроскопия отличается большой информативностью и очень высокой чувствительностью.

3.9.5. Электрохимические методы

Потенциометрия – метод, основанный на измерении равновесных потенциалов, возникающих на границе между испытуемым раствором и погруженным в него электродом. В фармацевтическом анализе наиболее широко используют потенциометрическое ти-

трование. Оно основано на установлении эквивалентного объема титранта путем измерения ЭДС, возникающей при титровании за счет разности потенциалов индикаторного электрода и электрода сравнения, погруженных в анализируемый раствор. Метод потенциометрии используют для определения pH (pH-метрия) и установления концентрации отдельных ионов.

Преимущества потенциометрического метода определения по сравнению с индикаторным состоят в возможности титрования окрашенных, коллоидных, мутных растворов, смеси нескольких компонентов в водных и неводных средах. Метод применим в различных видах титриметрии, основанных на реакциях нейтрализации, осаждения, окисления-восстановления. Электродом сравнения служит каломельный или хлоридсеребряный электроды, индикаторным – стеклянный. Измерение ЭДС между индикаторным электродом и электродом сравнения производят с помощью высокоомных потенциометров. Титрант прибавляют равными объемами, причем, вблизи точки эквивалентности по 0,1–0,05 мл. Около точки эквивалентности изменение ЭДС происходит наиболее сильно. Результаты титрования представляют либо графически, обозначая точку эквивалентности на кривой титрования, либо расчетным методом.

Ионометрия основана на использовании зависимости между ЭДС гальванической цепи с ионселективным электродом и концентрации анализируемого иона в электродной ячейке цепи. Метод отличается высокой чувствительностью, экспрессностью, хорошей воспроизводимостью, несложным оборудованием, доступными реагентами. Широко применяют для определения ионов натрия, калия, кальция, галогенидов в многокомпонентных смесях, в т.ч. ЛФ.

Полярография – метод, основанный на измерении силы тока, возникающего на электроде, при электровосстановлении анализируемого вещества в растворе. Растворителем служит вода, водные растворы кислот, щелочей и солей или органические и смешанные растворители. Электролиз проводят в полярографической ячейке, состоящей из электролизера и двух электродов: ртутного каплющего (ртутной капли) и внешнего – насыщенного каломельного (хлоридсеребряного). При соблюдении идентичных условий измерений для идентификации используют величину потенциала полуволны, а для количественного определения – высоту волны (из-

мерение предельного диффузного тока). Количественный анализ выполняют методами калибровочных кривых с использованием стандартных растворов и методом добавок.

3.9.6. Термические методы анализа

Термические методы основаны на изменениях, которые вызывает нагревание вещества в зависимости от их природы, температуры, условий нагревания. При этом происходят полиморфные превращения, удаление сорбционной и кристаллизационной воды, сублимация, плавление, кипение, разложение. Разложение веществ сопровождается такими химическими превращениями, как структурирование, термическая, окислительная или гидролитическая деструкция. Термическая деструкция сопровождается поглощением или выделением теплоты, а также образованием газообразных продуктов. Эти процессы лежат в основе **термографии** – оценке термической стабильности по температурам термоэффекта, связанного с деструкцией вещества.

Термический анализ основан на точной (до 0,1 °С) регистрации равновесного состояния между кристаллической и жидкой фазами анализируемого вещества при медленном нагревании или охлаждении. Лучшей воспроизводимостью отличается **дифференциальный термический анализ**, основанный на регистрации изменения энергии в зависимости от температуры. Одной из модификаций этого метода является **дериватография**, сущность которой состоит в регистрации изменений температуры образца (термических характеристик), вызванных дегидратацией, плавлением, термической деструкцией и другими процессами, происходящими при нагревании. Особенно широкие возможности создают термические методы при исследовании стабильности ЛВ.

3.9.7. Методы разделения

В фармацевтическом анализе для разделения смесей ЛВ используют экстракцию, хроматографические методы и электрофорез.

Экстракция – метод разделения, основанный на использовании экстрагента, не смешивающегося с исходной фазой и легко отделяющегося от нее и от экстрагируемых компонентов. В зависимости от исходной фазы различают экстракцию из твердого вещества и экстракцию из раствора (жидкостную). По количеству операций экстракция может быть однократной и многократной. В

фармацевтическом анализе экстракцию широко используют для разделения компонентов, входящих в состав ЛФ. Кроме того, ее сочетают с фотометрией в **экстракционно-фотометрическом методе**, основанном на образовании испытуемым веществом цветных продуктов реакции, способных экстрагироваться каким-либо органическим растворителем. Затем в органической фазе выполняют фотометрическое определение экстрагированного продукта.

Хроматографические методы разделения веществ основаны на их распределении между двумя фазами: подвижной и неподвижной. Подвижная фаза – жидкость или газ; неподвижная – твердое вещество или жидкость, адсорбированная на твердом носителе. Относительная скорость перемещения частиц вдоль пути разделения зависит от их взаимодействия с неподвижной фазой. Поэтому каждое вещество проходит на носителе определенный путь. Отношение пути перемещения вещества к пути перемещения растворителя есть величина постоянная, обозначаемая R_f . Она является константой для данных условий разделения и используется для идентификации ЛВ.

Хроматография на бумаге. Носителем неподвижной фазы (например, воды) служит специальная хроматографическая бумага. Распределение происходит между водой, находящейся на поверхности бумаги, и подвижной фазой, которая представляет собой систему из нескольких растворителей. Испытание выполняют согласно требованиям ГФ XI (в.1, с.98) или ФС (ФСП). Для подтверждения подлинности одновременно хроматографируют испытуемое вещество и стандартный образец. Если они идентичны, то пятна на хроматограммах будут иметь одинаковый вид и равные значения R_f . Чтобы исключить влияние на ошибку определения условий хроматографирования, пользуются более объективной константой R_s , которая представляет собой отношение величин R_f испытуемого и стандартного образцов. Хроматографию используют при испытании на чистоту. О наличии примесей судят по появлению дополнительных пятен на хроматограмме. Анализируемое вещество и примесь обычно имеют разные значения R_f .

Количественное содержание вещества можно определить непосредственно на хроматограмме, используя планиметрический, денситометрический, люминесцентный и другие методы. Используют также способы, основанные на элюировании анализируемого вещества из вырезанного и измельченного участка хроматограммы с соот-

ветствующим пятном. В элюате содержание испытуемого вещества определяют фотометрическим или электрохимическим методом.

Хроматография в тонком слое сорбента (ТСХ) отличается от хроматографии на бумаге тем, что процесс хроматографирования происходит на носителе (сорбенте), нанесенном тонким слоем на инертную поверхность. Твердый сорбент может быть закрепленным или незакрепленным на этой поверхности. Сорбентом служит силикагель или оксид алюминия. Для закрепления добавляют небольшие количества крахмала или сульфата кальция. Используют также пластинки промышленного изготовления типа «Силуфол УФ-254», «Сорбфил» и др.

Преимущества ТСХ является простота приемов и оборудования, более высокая чувствительность, чем у бумажной хроматографии, устойчивость пластинок к температурным и химическим воздействиям, значительно большие возможности процессов разделения, детектирования, элюирования, меньшая продолжительность выполнения испытания. Все это создает широкие возможности в использовании ТСХ для выполнения испытаний на подлинность, на чистоту, для количественного определения ЛВ и ЛФ.

Двумерное хроматографирование отличается повторным (после высушивания) пропусканием той же или иной подвижной фазы, но в перпендикулярном по отношению к первоначальному направлению. При этом используют квадратные пластины или листы бумаги.

В фармацевтическом анализе широко применяют сочетание ТСХ с физико-химическими методами анализа. Такие комбинированные методы, как хромато-спектрофотометрия, хромато-флуориметрия, хромато-масс-спектроскопия, особенно эффективны в анализе ЛРС и препаратов, содержащих большое число сопутствующих компонентов.

Газожидкостная хроматография (ГЖХ) основана на распределении компонентов смеси между газовой и жидкой или твердой фазами. Распределение происходит в результате многократных актов сорбции и десорбции анализируемых веществ, которые вводятся в поток газа-носителя, испаряются и в парообразном состоянии проходят через колонку с сорбентом. Поэтому метод ГЖХ применим для анализа летучих веществ или веществ, которые могут быть переведены в газообразное состояние. Разделенные вещества элюируются из колонки потоком газа-носителя, регистрируются детектором и фиксируются на хроматограмме в виде пиков,

по которым можно идентифицировать или определять содержание каждого компонента смеси.

Газовый хроматограф включает в себя систему измерения и регулирования скорости потока газа-носителя, систему ввода пробы испытуемого образца, газохроматографическую колонку, систему термостатирования и контроля температуры в различных узлах прибора и систему детектирования, регистрации и обработки информации, полученной на приборе.

Подлинность ЛВ методом ГЖХ можно подтвердить либо с помощью свидетелей, либо методом относительных удерживаний. В первом случае доказательством идентичности служит совпадение времени удерживания вещества-свидетеля и одного из компонентов смеси ЛВ при хроматографировании каждого в отдельности в одинаковых условиях. Во втором случае вещество-свидетель добавляют к пробе, затем анализируют по рекомендуемой методике. Рассчитывают по формуле величину относительного удерживания, которая является постоянной для ЛВ в конкретных условиях. Количественный анализ выполняют в тех же условиях, используя для расчетов такие параметры, как площадь или высота пиков ЛВ. Площадь пиков устанавливают на хроматограмме с помощью планиметра, интегратора или умножением высоты пика на его полуширину.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) отличается от ГЖХ тем, что подвижной фазой служит не газ, а жидкость, причем она проходит через колонку, наполненную сорбентом, с большой скоростью за счет значительного давления. Поэтому ВЭЖХ позволяет разделять многокомпонентные смеси на индивидуальные вещества высокой степени чистоты. ВЭЖХ отличается высокой чувствительностью (до 10^{-6} г). На разделение 10–15 компонентов затрачивается 20–30 мин.

Жидкостный хроматограф включает такие узлы, как дозатор, насос высокого давления, высокоэффективная колонка, детектор с регистрирующим устройством. Колонки изготавливают из нержавеющей стали, они имеют длину 10–25 см, внутренний диаметр 0,3–0,8 см и плотно набиваются адсорбентом с размером частиц 5–10 мкм. В качестве элюента используют различные углеводороды в сочетании с этанолом. Детектором обычно служит спектрофотометр с переменной длиной волны (190–900 нм), но существуют также флуориметрические, электрохимические и другие детекторы.

Подлинность испытуемых ЛВ подтверждают по времени выхода каждого компонента смеси из колонки, которое будет стабильно при одинаковых условиях проведения эксперимента. Количественное содержание рассчитывается по площади пика, которая пропорциональна количеству ЛВ в пробе.

Электрофорез – метод анализа, основанный на способности заряженных частиц к перемещению в электрическом поле. Скорость перемещения ионов зависит от напряженности электрического поля, величины заряда, размера частицы, вязкости, pH среды, температуры и других факторов. Электрофоретическая подвижность – величина, характерная для испытуемого вещества. Различают абсолютную (измеряемую в сантиметрах в секунду) и относительную электрофоретическую подвижность (отношение к подвижности стандартного образца). По технике выполнения и аналитическим возможностям электрофорез на бумаге и в тонких слоях сорбента сходен с ТСХ. Он позволяет разделять и идентифицировать компоненты различных смесей.

3.10. Биологические и микробиологические методы контроля качества лекарственных веществ

Биологическую оценку качества ЛВ проводят по их фармакологической активности или токсичности. Биологические и микробиологические методы применяют в тех случаях, когда с помощью физических, химических и физико-химических методов нельзя сделать заключение о доброкачественности ЛС. Биологические испытания проводят на животных (кошки, собаки, голуби, кролики, лягушки и др.), отдельных изолированных органах (рог матки, часть кожи) и группах клеток (форменные элементы крови, штаммы микроорганизмов и др.). *Биологическую активность устанавливают, как правило, путем сравнения действия испытуемых и стандартных образцов.*

Биологическая оценка сердечных гликозидов в ЛП основана на их способности вызывать в токсических дозах систолическую остановку сердца животных. Испытание проводят на лягушках, кошках и голубях, устанавливая соответствующие ЕД (единицы действия): ЛЕД, КЕД, ГЕД, которые вызывают в условиях опыта систолическую остановку сердца у животных. Активность ЛП

оценивают путем сравнения с активностью стандартных образцов и рассчитывают содержание ЕД в 1 г, 1 мл или в 1 таблетке испытуемого ЛС. Биологической оценке подлежат листья, трава, семена, цветки различных видов наперстянки, горицвета, ландыша, строфанта, желтушника и приготовленные из них ЛС.

Биологическую активность антибиотиков устанавливают методом, основанном на сравнительной оценке угнетения роста микроорганизмов. Наиболее широко используют рекомендованный **ГФ метод диффузии в агар**, заключающийся в сравнении действия определенных концентраций испытуемого и стандартного образца антибиотика на тест-микроорганизм. ЕД представляет собой меру, которой выражается биологическая активность каждого антибиотика, она соответствует определенной его массе. Для большинства антибиотиков одна ЕД соответствует 1 мкг активного вещества.

Биологическую активность инсулина устанавливают, сравнивая гипогликемическое (сахароснижающее) действие испытуемого инсулина и стандартного образца инсулина. Стандартный образец представляет собой высокоочищенный инсулин, многократно проверенная активность которого (по сравнению с активностью международного стандарта) составляет не менее 25 ЕД в 1 мг. Испытания выполняют на кроликах (ГФ XI, в.2, с. 176).

Испытания на содержание веществ гистаминоподобного действия основаны на последовательном повторном введении животным вначале гистамина (0,1 мкг/кг), а затем испытуемого раствора. Одновременно контролируют артериальное давление. Выполняют испытания на кошках обоего пола массой не менее 2 кг под уретановым наркозом. Испытанию подвергают парентеральные ЛС (ГФ XI, в.2, с. 185).

Испытание на пирогенность, основано на способности пирогенных веществ повышать температуру тела теплокровных животных. Суть испытания состоит в измерении температуры тела кроликов после введения им в ушную вену испытуемых стерильных жидкостей. Испытания проводят на трех кроликах, масса тела которых не отличается более чем на 0,5 кг. Жидкость считают непирогенной, если сумма повышения температуры у трех кроликов не превышает 1,4 °С. Если эта сумма находится в пределах 1,5–2,2 °С, испытание повторяют на пяти кроликах, а если превышает 2,2 °С, то жидкость считается пирогенной.

Испытание пирогенности на кроликах отличается определенными трудностями. Поэтому во многие фармакопеи мира (США, Великобритании, Китая и др.) для определения пирогенности ЛС включен так называемый **ЛАЛ-тест** (определение бактериальных эндотоксинов). В его основе лежит способность лизата амёбоцитов (клеток крови) мечехвоста специфически реагировать с эндотоксинами грамотрицательных бактерий (липосахаридами). В результате взаимодействия эндотоксина и лизата появляется помутнение прозрачной реакционной смеси или происходит образование твердого геля, что служит подтверждением присутствия эндотоксина. Сырьем для производства ЛАЛ-реагента служит кровь мечехвостов – морских животных, обитающих у берегов Северной Америки, Японии, Китая, Вьетнама.

ЛАЛ-тест высокоспецифичен по отношению к эндотоксинам грамотрицательных бактерий. Его чувствительность во много раз выше, чем у фармакопейного теста на кроликах, а области применения значительно шире. ЛАЛ-тест применим в производственном (постадийном) контроле содержания эндотоксинов в инъекционных ЛФ, поскольку дает возможность получения результатов в течение 1–2 часов и одновременного испытания большого количества образцов. Кроме того, этот тест обеспечивает надежность и воспроизводимость получения результатов, сочетающихся с простотой используемой методики. Реактив для ЛАЛ-теста представляет собой сублимационно высушенный лизат, который готов к использованию после разведения его апиrogenной водой. Учитывая преимущества ЛАЛ-теста, подготовлен проект ОФС «Определение содержания бактериальных эндотоксинов» для включения в очередное издание ГФ РФ.

Испытание на токсичность проводят на белых мышах обоего пола массой 19–21 г. Испытуемый раствор вводят в хвостовую вену пяти мышам и ведут наблюдение за ними в течение 48 час. Если ни одна из подопытных мышей в течение этого срока не погибнет, то ЛП считается выдержавшим испытание на токсичность. В случае гибели хотя бы одной мыши испытания повторяют по определенной схеме и делают окончательное заключение о его токсичности.

Испытаниям на микробиологическую чистоту подвергают не стерилизуемые в процессе производства ЛП (таблетки, капсулы, гранулы, растворы, экстракты, мази и др.). Эти испытания имеют своей целью определение состава и количества имеющейся в

ЛФ микрофлоры. При этом устанавливается соответствие нормам, ограничивающим микробную обсемененность (контаминацию). Испытание включает количественное определение жизнеспособных бактерий и грибов, выявление некоторых видов микроорганизмов, кишечной флоры и стафилококков. Испытание выполняют в асептических условиях в соответствии с требованиями ГФ XI (в.2, с.193) двухслойным агаровым методом в чашках Петри.

Испытание на стерильность основано на доказательстве отсутствия в ЛС жизнеспособных микроорганизмов любого вида и является одним из важнейших показателей безопасности ЛС. Этим испытаниям подвергаются все ЛП для парентерального введения, глазные капли, мази и т.д. Для контроля стерильности применяют биогликолевую и жидкую среду Сабуро, используя метод прямого посева на питательные среды. Если ЛС обладает выраженным антимикробным действием или разлито в емкости более 100 мл, то используют метод мембранной фильтрации (ГФ, в.2, с. 187).

3.11. Валидация методов анализа

Валидация – это подтверждение обоснованности выбора метода анализа для установления норм качества ЛС по каждому разделу НД. Она проводится при подготовке проектов НД на новые ЛС или при последующем пересмотре НД. Валидации подвергаются аналитические методы, используемые для идентификации ЛВ, установления содержания в нем различных примесей, количественного определения индивидуальных ЛВ и содержания их в ЛФ, определения вспомогательных веществ и консервантов.

Валидация метода анализа предполагает оценку его специфичности, линейной зависимости результатов испытаний, аналитической области методики, правильности, воспроизводимости результатов, предела обнаружения.

Ревалидация необходима в тех случаях, когда произошли изменения в синтезе ЛВ, в составе ЛС, в аналитической методике. Параметры аналитического метода, устанавливаемые при его валидации и ревалидации, рассчитываются в соответствии с существующими правилами статистической обработки результатов анализа.

Специфичность метода анализа обуславливает его способность достоверно установить наличие ЛВ в присутствии других

компонентов (примесей, вспомогательных веществ). Оценка специфичности необходима для методов, используемых при идентификации, определении примесей и количественного содержания ЛВ.

Линейная зависимость аналитических сигналов от концентрации ЛВ устанавливается графически. Оценивается она на основании не менее 5 испытаний, выполненных с помощью используемой аналитической методики. Параметрами, подтверждающими линейную зависимость, являются коэффициент регрессии, угол наклона линии регрессии и остаточная сумма площадей.

Аналитическая область методики охватывает интервал между верхним и нижним пределами содержания испытуемого вещества, в котором соблюдается линейная зависимость. При этом данная методика должна обеспечивать определение с требуемой воспроизводимостью и точностью. Аналитическая область выражается в тех же единицах, что и результаты испытаний с помощью данной методики (проценты, миллионные доли).

Правильность (точность) аналитического метода характеризует близость результатов, полученных с помощью данной методики, к истинному значению. При установлении этого параметра для количественного определения субстанций, примесей могут быть использованы стандартные образцы, другие независимые методики, модельные смеси, метод добавок. Правильность оценивается не менее чем по трем повторным определениям для трех аналитических концентраций в пределах аналитической области.

Воспроизводимость аналитического метода отражает степень совпадений результатов отдельных испытаний при многократном использовании методики. Она устанавливается при количественном определении не менее 9 аликвот образца и выражается в результате статистической обработки по величинам стандартного отклонения, коэффициента вариации и доверительного интервала.

Межлабораторная воспроизводимость аналитического метода показывает степень воспроизводимости результатов испытаний, выполненных по разработанной методике в различных лабораториях на соответствующем оборудовании, разными аналитиками, в разное время.

Предел обнаружения – минимальное содержание анализируемого вещества, которое можно обнаружить с помощью данной методики (выражается в процентах или миллионных долях). Устанавливается для химических методов визуально. Для физико-

химических методов устанавливается по минимальной концентрации испытуемого вещества, которое может быть достоверно обнаружено или рассчитывается по величине стандартного отклонения и углу наклона калибровочной кривой.

Предел количественного определения – минимальное содержание (в процентах) анализируемого вещества, которое может быть определено с достаточной точностью и воспроизводимостью. Устанавливается для любых методов визуально или расчетным путем подобно установлению предела обнаружения.

Пригодность системы – интегральная часть аналитических методик, подтверждающая надежность анализа в заданных условиях его проведения.

3.12. Стандартные образцы

Стандартными образцами (СО) называют вещества, с которыми сравнивают испытуемые ЛС при проведении их анализа физико-химическими или биологическими методами. Условно разделяют СО на химические и биологические, но это не исключает использования одного и того же из них и для физико-химического, и для биологического анализа. В ГФ XI, вып. 2 (с. 60) даны определения терминов «государственные стандартные образцы» (ГСО), «рабочие стандартные образцы» (РСО) и «стандартные образцы веществ-свидетелей» (СОВС). Активность, или содержание вещества (%) в ГСО принимается за 100%, если нет других указаний на этикетке. Выпуск ГСО осуществляют в соответствии с требованиями ФС, которая разрабатывается предприятием-разработчиком. В качестве РСО используют образцы серийных ЛВ, которые соответствуют требованиям ФС (ФСП). Расчет количественного содержания ЛВ в ЛФ проводят исходя из фактического содержания его в РСО. В качестве СОВС используют ГСО, РСО и вещества, специально изготовленные в порядке, предусмотренном ФС. Применяют СОВС для определения примесей или компонентного состава испытуемых ЛС.

Ряд особенностей имеют СО на антибиотики. Среди них имеются как однокомпонентные вещества, так и сложные, состоящие из нескольких компонентов близкой природы (аминогликозиды, полиены), каждый из которых определяет как активность и ток-

сичность, так и физико-химические константы ЛС. При разработке такого СО его активность определяется исходя из количественного содержания в нем действующего ЛВ. Кроме того, при стандартизации антибиотиков имеется тенденция к созданию единого стандарта к группе веществ, сходных по химическому строению.

Аттестацией, хранением и реализацией СО занимается ГНИИСКЛС. Он проводит экспертизу всех проектов ФС на ГСО, разработанных предприятиями и организациями, выпускающими эти ГСО. Только после этого они утверждаются МЗ РФ в установленном порядке.

Номенклатура ГСО отечественного производства включает около 140 наименований. Они используются при выполнении физико-химических и биологических испытаний более чем 300 ЛС (прежде всего синтетических). Еще более широко используются РСО, представляющие собой образцы серийных ЛВ. Их применение отражено в более 700 ФС для испытаний подлинности, чистоты и количественного определения.

4. СТАБИЛЬНОСТЬ И УСТАНОВКА СРОКОВ ГОДНОСТИ

4.1. Испытания стабильности и установление сроков годности лекарственных средств

4.1.1. Порядок проведения испытаний

Процессы, происходящие при получении, хранении и транспортировке ЛС, влияние при этом различных факторов, требуют проведения необходимых исследований для установления условий хранения и сроков годности. Порядок испытаний стабильности ЛС, проводимых в целях установления сроков их годности и оптимальных условий хранения, регламентируется отраслевым стандартом (ОСТ) «Лекарственные средства. Испытания стабильности и установление сроков годности».

Этот стандарт распространяется на все предприятия и организации, которые разрабатывают и производят лекарственные веще-

ства (субстанции) и ГЛС промышленного изготовления, независимо от их ведомственной подчиненности и форм собственности.

Исследование стабильности осуществляют, изучая механизм физических или химических процессов, происходящих при длительном хранении ЛС. Оценивают стабильность, определяя в ЛВ количество основного компонента и продуктов его разложения. Процессы разложения ЛВ происходят очень медленно при обычных условиях хранения. Это весьма положительный момент с точки зрения стабильности. Однако он создает трудности в исследованиях, так как даже в течение длительного времени образуются очень малые количества продуктов разложения.

Результаты исследования стабильности используются для установления условий хранения, периодов переконтроля ЛВ и сроков годности ГЛС, для разработки на них НД (ФС, ФСП), выбора аналитических методов, позволяющих надёжно определить ЛВ и продукты его деструкции, а также для выбора упаковочно-укупорочных материалов.

Первоначальный срок годности ЛС и, соответственно, условия хранения устанавливаются организацией-разработчиком на основе результатов изучения стабильности. Как правило, вначале определяется не срок годности, а период переконтроля (за исключением нестойких биологических субстанций). Для ГЛС не рекомендуется устанавливать срок годности более 5 лет.

Процесс изучения стабильности строится в зависимости от особенностей исследуемых ЛВ, ЛФ и упаковочно-укупорочной системы. Испытывают ЛФ, изготовленные из различных серий субстанции. Если упаковка представляет собой непроницаемый для внешних воздействий барьер (ампулы), влияние влажности не изучается. Для растворов должно быть предусмотрено изучение влияния отрицательных температур на стабильность.

Обязательно учитывается зависимость условий хранения от средне-климатической температуры (СКТ) и относительной влажности в регионе предполагаемого рынка сбыта. При этом руководствуются данными о климатических зонах мира (табл. IV.1.).

Для Российской Федерации при исследовании стабильности ЛС используют условия I-II климатических зон. Если предполагается выход производимых ЛС на мировой рынок, то следует исходить из условий IV зоны.

Климатические зоны мира

Климат	Примеры регионов	СКТ, °С	Относительная влажность, %
I – умеренный	Северная Европа, Канада	21	45
II – субтропический	Средиземноморье	25	60
III – сухой тропический	Зона пустынь	30	35
IV – влажный тропический	Зона тропических лесов	30	70

В основу проведения аналитических операций при исследовании стабильности должны быть положены методы, изложенные в ОФС Государственной фармакопеи. Вначале экспериментальные образцы ЛС контролируются по всем показателям соответствующей ФС (ФСП) или её проекта. В дальнейшем контролируются только те показатели, которые могут изменяться в процессе хранения. Для определения продуктов деструкции и изучения дополнительных физико-химических или биологических характеристик образцов можно использовать специальные методы анализа.

Классические химические методы, как правило, не позволяют обнаружить и определить малые количества продуктов разложения. Важную информацию о наличии в молекулах исследуемых органических ЛВ тех или иных функциональных групп, подтверждающих образование продуктов разложения, может дать ИК-спектроскопия. Высокой специфичностью и чувствительностью отличаются методы ЯМР-, ЭПР- и масс-спектроскопии. Особенно широко для исследования стабильности ЛВ применяют различные виды хроматографии, сочетая их с другими физико-химическими методами. Газожидкостная хроматография (ГЖХ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) оказались весьма перспективными для оценки стабильности многих ЛВ. Важно, что применение этих методов требует очень малых количеств анализируемых веществ.

Проводимый организацией-разработчиком анализ образцов, заложенных на долгосрочное хранение, проводится каждые 3 месяца в течение первого года, каждые 6 месяцев в течение второго года и затем ежегодно. При проведении ускоренных испытаний анализ осуществляется через 1, 2 и 3 месяца после закладки и, в случае необходимости, через 6 месяцев.

Установленные сроки годности и сроки переконтроля ЛС могут быть пересмотрены по мере накопления экспериментальных данных. Полученные данные об их изменениях, а также о рекомендуемых условиях хранения оформляются как изменения к ФС (ФСП).

Работники аптечной сети должны осуществлять постоянный контроль за условиями и сроками хранения ЛС, выявлять ЛП с признаками нестабильности, а также знакомить потребителей с требованиями к хранению ЛС в домашних условиях.

4.1.2. Цели и виды испытаний стабильности

Основная цель изучения стабильности – получение информации об изменениях качества ЛС с течением времени в зависимости от влияния факторов окружающей среды (температуры, влажности, освещения). Для достижения этой цели используют три вида испытаний: стресс-тесты, ускоренные испытания, долгосрочные испытания.

Стресс-тесты – применяют, как правило, при испытаниях образцов одной серии новых ЛВ (субстанций). Их основное назначение – получение исходных данных, которые затем используются для планирования и проведения испытаний стабильности другими методами. С помощью стресс-тестов определяют характер и течение реакции деструкции, выявляют их важнейшие продукты, подбирают оптимальные аналитические методики для определения исходного ЛВ и продуктов его распада в присутствии друг друга. Обычные условия стресс-тестов: температура 50, 60 или 70 °С, т.е. минимум на 10 °С выше, чем в ускоренных испытаниях, влажность не ниже 75%. Однако, следует учитывать, что характер происходящих при этом химических процессов не всегда может совпадать с ходом реакций при более мягких условиях. Для светочувствительных ЛВ могут быть предусмотрены испытания фото-стабильности.

Ускоренные испытания стабильности используют в процессе разработки новых ЛС с целью ускорения сравнительного изучения различных вариантов экспериментальных прописей, технологических приёмов, упаковочно-укупорочной системы. Ускоренные испытания проводят при более высокой, не менее чем на 15 °С, по сравнению с долгосрочными испытаниями температуре и при влажности более высокой по сравнению с ожи-

даемыми условиями хранения. В предрегистрационный период подготовки НД ускоренные испытания проводят для того, чтобы подтвердить результаты исследований в реальном времени. Это позволяет установить более длительный первоначальный срок годности, чем тот, который вытекает из имеющихся результатов долгосрочного хранения. В пострегистрационный период ускоренные испытания проводят для предварительного подтверждения возможности изменений утверждённых условий производства (прописи, технологии, перенос площадки и др.). Однако в дальнейшем эти результаты могут быть подтверждены данными испытаний в реальном времени.

Следует учесть, что возможность ускоренных испытаний термостабильных ЛВ и некоторых ЛФ (эмульсии, мази) весьма ограничены. Для них основным методом изучения стабильности являются долгосрочные испытания. Вместе с тем, положительные результаты ускоренных испытаний дают возможность сделать заключение о том, что эти ЛС проявят устойчивость при краткосрочных отклонениях условий хранения от нормальных.

Долгосрочные испытания (испытания в реальном времени). Результаты этих испытаний являются важнейшим основанием для установления и подтверждения оптимальных сроков годности ЛС как при их регистрации, так и в пострегистрационный период. Они проводятся в условиях, максимально приближенных к предполагаемым условиям хранения ЛС в процессе реализации.

4.1.3. Методы ускоренного определения стабильности лекарственных средств

Рекомендуемые ОСТом для определения стабильности ЛС долгосрочные испытания проводятся в реальном времени. Они заключаются в том, что ЛС в течение периода, отводимого на его реализацию (обычно от 2 до 5 лет), хранят при комнатной температуре. Через определенные промежутки времени оценивают качество хранящегося ЛС по ФС (ФСП). На основании результатов анализа делают заключение об оптимальном сроке хранения. Такой метод позволяет получить наиболее объективное заключение, но на проведение испытаний уходит несколько лет.

Используемые ускоренные испытания и стресс-тесты исследования стабильности ЛС основаны на определении их качества путем испытаний в более жестких условиях.

Методы ускоренного хранения (ускоренного старения) позволяют за 15–115 дней при 40–70 °С установить сроки хранения, которые, как правило, совпадают с результатами, полученными при хранении ЛВ при комнатной температуре в течение 3–5 лет. Исследования ведут в климатических шкафах или комнатах, которые имеют устройства, позволяющие автоматически регулировать заданные условия хранения: температуру, влажность, свет. Оценку стабильности осуществляют, исследуя физические и химические изменения ЛВ.

Таким образом, методы ускоренного старения основаны на изучении кинетики реакций разложения лекарственных веществ. Используя факторы, ускоряющие химические реакции (температуру, свет, влагу, рН среды, кислород), можно в течение короткого промежутка времени количественно установить те изменения, которые происходят с ЛС при длительном хранении. Из перечисленных факторов чаще всего используют температуру. На основе полученных результатов устанавливают оптимальные параметры хранения ЛС: температурный режим, влажность, освещенность, рН среды, характер упаковки и т.д.

Цель исследования стабильности ЛС методами ускоренного хранения может быть различной. Если исследуется лекарственное вещество (субстанция), то устанавливают влияние температуры, света и других факторов на процесс разложения (скорость химических реакций). Для лекарственных форм также устанавливают влияние вспомогательных веществ, стабилизаторов и других компонентов на стабильность.

Выполнение исследований методом ускоренного старения осуществляют, запаивая образцы в стеклянные трубки или ампулы в количестве, необходимом для однократного испытания. При изучении влияния на стабильность ЛВ атмосферного кислорода выполняют сравнительные испытания при одинаковой температуре, но помещая одну порцию испытуемого ЛВ в открытый сосуд, а другую – в запаянную ампулу, из которой вытеснен воздух.

В течение всего эксперимента необходимо строгое соблюдение температурного режима. Для этого используют ультратермостаты, позволяющие поддерживать температуру на заданном уровне с точностью $\pm(0,2-1)$ °С. При повышении температуры, как правило, ускоряются протекающие в ЛВ физико-химические процессы. Зависимость скорости реакции от температуры лежит в осно-

ве ускоренных методов старения и определяется либо правилом Вант-Гоффа, либо уравнением Аррениуса.

I. Наиболее простая методика определения сроков годности лекарственных веществ и лекарственных форм изотермическим методом основана на использовании правила Вант-Гоффа: при повышении температуры на 10 °С скорость химической реакции возрастает в 2–4 раза. Это правило справедливо только для реакций, протекающих в сравнительно небольшом температурном интервале. Так как для установления сроков хранения обычно используют температурный интервал 10 °С и ведут исследования при температуре от 40 до 70 °С, то правило Вант-Гоффа оказывается вполне приемлемым. На основании этого правила была разработана «Временная инструкция по проведению работ для определения сроков годности лекарственных средств на основе метода ускоренного старения при повышенной температуре».

Она определяет единый порядок экспериментального хранения ЛС при повышенной температуре с целью установления сроков их годности. Инструкция распространяется только на индивидуальные ЛВ (субстанции) и их ЛФ. Она не может быть использована для установления сроков годности растительного сырья, полипептидов, белковых, эндокринных и других ЛС биологического происхождения с неустановленной химической структурой или не имеющих определенного состава. Работу по установлению сроков годности в соответствии с инструкцией выполняют организации-разработчики или предприятия-изготовители.

В соответствии с требованиями этой инструкции испытуемое ЛС в заводской упаковке подвергают воздействию температур, превышающих среднюю температуру его хранения. При этом сокращается промежуток времени, в течение которого происходят физические и химические процессы, приводящие к разрушению ЛВ в обычных условиях хранения до допустимых пределов (10%). При удачном подборе температурного интервала изменяются практически те же контролируемые показатели качества ЛВ, что и в условиях обычного хранения, но в значительно меньшем интервале времени. Это искусственное моделирование дает возможность в более короткие промежутки времени установить сроки хранения ЛС при 20–25 °С. Кроме того, метод позволяет решать и другую задачу – найти температуру хранения, обеспечивающую заданный срок годности (для ЛВ, имеющих ограниченный срок годности при комнатной температуре).

Как правило, предельные температуры экспериментального хранения составляют 60 °С для индивидуальных ЛВ, таблеток, капсул, присыпок (при высокой термической устойчивости этих ЛС она может быть и выше), 60 °С для инъекционных растворов, 40 °С для мазей, линиментов, шприц-тюбиков, 30 °С для суппозиторий и аэрозолей. При проведении испытаний влияние света на испытуемые образцы должно быть исключено.

Срок годности (C) при температуре хранения ($T_{\text{хр}}$) связан с экспериментальным сроком годности (C_3) при температуре экспериментального хранения (T_3) зависимостью $C = KC_3$, где K – коэффициент соответствия:

$$K = A \frac{T_3 - T_{\text{KF}}}{10}$$

Исходя из правила Вант-Гоффа, температурный коэффициент скорости химической реакции (A) при увеличении температуры на 10 °С принят равным $A = 2$.

Отсюда легко рассчитать значения K при различных значениях разности $T_3 - T_{\text{хр}}$:

$T_3 - T_{\text{хр}}$	10	20	30	40	50	60	70
K	2	4	8	16	32	64	128

Условия и порядок проведения экспериментов по установлению сроков годности заключаются в следующем:

1. Эксперименты выполняются в термостатах при такой возможно более высокой температуре в интервале 50–100 °С, которая должна обеспечивать получение результатов по установлению сроков годности в самые короткие промежутки времени. Однако при этой температуре не должны происходить необратимые изменения агрегатного состояния ЛС или разрушения упаковки.

2. Определение срока годности должно проводиться не менее чем на трех сериях ЛС.

3. Температура экспериментального хранения (T_3) должна превышать среднюю температуру хранения ($T_{\text{хр}}$) не менее чем на 10 °С.

4. Оценка качества испытуемых образцов должна проводиться по показателям НД (ФС, ФСП).

5. Показатели качества определяют через промежутки времени, эквивалентные 6 мес. хранения при обычных условиях (для данного ЛС). Периодичность контроля при $A = 2$:

$T_{\text{э}} - T_{\text{хр}}, ^\circ\text{C}$	10	20	30	40	50	60	70
Периодичность контроля, суток	92	46	23	11	6	2,9	1,4

6. Количество ЛС, предназначенное для экспериментального хранения при каждой из выбранных температур, должно быть достаточным для выполнения шести параллельных испытаний.

7. Началом экспериментального хранения считается момент помещения ЛС в термостат, а окончанием – либо завершение эксперимента, либо тот его период, когда ЛС перестает соответствовать требованиям НД (ФС, ФСП).

8. Предельные сроки экспериментального хранения при различных температурах соответствуют трех- или пятилетнему сроку обычного хранения при следующих результатах экспериментального хранения (суток):

$T_{\text{э}} - T_{\text{хр}}, ^\circ\text{C}$	10	20	30	40	50	60	70
Срок годности 3 года.	548	274	137	68	34	17	8,6
Срок годности 5 лет	913	456	228	114	57	29	14,3

9. Для вычисления срока годности экспериментальный срок хранения умножают на коэффициент соответствия (K). Из рассчитанных значений (при различных $T_{\text{э}} - T_{\text{хр}}$) вычисляют среднеарифметическое. При их расхождении более чем на 180 суток срок годности, найденный при более высокой температуре, отбрасывают.

10. Если сроки годности, установленные на разных сериях ЛС, отличаются не более чем на 60 суток, усреднение проводят обычным путем или за срок годности принимают минимальное из полученных значений.

11. Пользуясь результатами эксперимента, можно рассчитать также температуру хранения, которая позволяет обеспечивать заданный срок годности. Для этого используют одну из формул:

$$T_{\text{хр}} = 20 + \frac{10}{\lg A} \cdot \frac{C_{20^0}}{C} \quad \text{или} \quad T_{\text{хр}} = T_{\text{э}} + \frac{10}{\lg A} \cdot \frac{C_{\text{э}}}{C}.$$

12. За максимальную теоретически допустимую температуру хранения (T_{\max}) принимается температура, при которой срок годности ЛС равен 3 годам. Рассчитывают ее, исходя из срока годности при 20 °С по формуле, выведенной из приведенных выше:

$$T_{\max} = 20 + \frac{10}{\lg A} \lg \frac{C_{20^0}}{3 \cdot 365},$$

где C_{20^0} – срок годности при 20°С, суток; 3·365 – трехлетний срок годности, суток.

Результаты расчета T_{\max} при $A = 2$ соответствуют следующим данным:

C_{20^0} , суток	180	270	365	548	730	1095	1460	1865	2190	2920	4380
T_{\max} , °С.	-6	0	4	10	14	20	24	27	30	34	40

II. Методы ускоренного старения, основанные на использовании уравнения Аррениуса, в зависимости от способа термостатирования делятся на изотермические и не изотермические. Суть изотермического метода, как и при использовании правила Вант-Гоффа, сводится к экспериментальному определению констант скорости химической реакции для нескольких фиксированных температур. Выбор последних осуществляют с таким расчетом, чтобы скорость протекающей реакции была приемлемой для выполнения эксперимента. С учетом порядка реакции рассчитывают время, в течение которого концентрация активного вещества уменьшается на 10%, при условии, что продукты разложения не токсичнее исходного соединения. Этот период времени принимают за срок годности данного ЛС. Для выполнения испытаний изотермическим методом необходимо предварительно доказать идентичность процесса разложения при различных температурах.

Зависимость скорости реакции от температуры определяется уравнением Аррениуса

$$\lg K = \lg A - \frac{E}{2,303RT},$$

где K – константа скорости при некоторой температуре; E – энергия активации, кДж/моль; R – молярная газовая постоянная, равная 8,314 Дж/(моль·К); A – эмпирическая константа; T – абсолютная температура.

Многочисленными экспериментами было установлено, что уравнение Аррениуса с достаточной точностью описывает зави-

симость скорости реакции от температуры в широком температурном интервале для реакций различных порядков.

Определение срока годности лекарственного средства с помощью уравнения Аррениуса осуществляют, выполняя следующие операции:

1. Определение константы скорости разложения ЛС и порядка реакции, которые устанавливают экспериментально по трем-четырем значениям температуры (обычно в интервале от 40 до 70 °С). Для этого из смеси ЛВ (с известной начальной концентрацией) и продуктов его разложения через определенные промежутки времени отбирают пробы. В каждой из них устанавливают концентрацию испытуемого ЛВ и подставляют это значение в уравнения для констант скоростей реакций различных порядков. На основании сделанных вычислений устанавливают, в каком из уравнений полученная величина будет иметь постоянное значение. Постоянство значений констант скорости указывает на пригодность того или иного уравнения и соответственно на порядок реакции. Затем производят вычисление среднего значения констант скоростей при всех температурах опыта.

2. Построение графика зависимости в аррениусовых координатах $-\lg K - f(1/T)$. Используя полученные значения K при различных температурах, строят график зависимости между логарифмом константы скорости реакции ($-\lg K$) и обратным значением абсолютной температуры ($1/T$). Прямолинейная зависимость графика позволяет путем экстраполяции определить значения $\lg K$ для 20 °С (или другой заданной температуры) с последующим вычислением значения константы скорости K .

Константу скорости реакции разложения ЛВ можно рассчитать не только по графику, но и по выведенной из уравнения Аррениуса формуле:

$$\lg \frac{K_{T_2}}{K_{T_1}} = \frac{E}{2,303} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right),$$

где K_{T_2} и K_{T_1} – константы скорости реакции при температурах T_2 и T_1 .

Определив константу скорости реакции при более высокой температуре T_2 , можно рассчитать константу скорости для комнатной (или другой заданной) температуры T_1 . При расчетах исходят из предположения, что энергия активации E для данной реакции не зависит от температуры (или меняется незначительно).

3. Расчет энергии активации E процесса разложения исследуемого ЛВ и вычисление эмпирической константы A уравнения Аррениуса.

По двум константам скорости реакции K_1 и K_2 (при условии, что $K_1 > K_2$), соответственно установленным при двух различных температурах T_1 и T_2 ($T_1 > T_2$), вычисляют энергию активации E :

$$E = \frac{\lg(K_1 / K_2) \cdot 2,303R}{1/T_2 - 1/T_1}$$

Кроме того, энергию активации можно определить графическим способом по линейной зависимости $-\lg K$ от $1/T$, используя уравнение

$$E = 2,303R(\operatorname{tg} \alpha)\xi,$$

где α – угол наклона прямой к оси абсцисс; ξ – отношение масштаба по оси абсцисс к масштабу на оси ординат.

Константу A вычисляют с помощью видоизмененного уравнения Аррениуса:

$$\lg A = \lg K + E/(2,303RT).$$

4. Вычисление времени разложения ЛВ (при заданной температуре) по соответствующему кинетическому уравнению и полученной величине K . По найденному значению K рассчитывают время t , в течение которого происходит разложение ЛВ при 20 °С (или другой заданной температуре). Если процесс представляет собой химическую реакцию первого порядка, то расчет ведут по уравнению

$$t = \frac{2,303}{K} \lg \frac{c_0}{c_t}$$

Если процесс представляет собой реакцию второго порядка и реагирующие вещества взяты в эквивалентных количествах, то время хранения рассчитывают по уравнению

$$t = \frac{c_t}{Kc_0(c_0 - c_t)},$$

где c_0 – концентрация реагирующего вещества; c_t – концентрация этого вещества, прореагировавшего к моменту времени t .

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Беликов, В. Г. Фармацевтическая химия : учебное пособие / В. Г. Беликов. В 2 ч. – М. : МЕДпресс-информ, 2007. – 624 с.
2. Глущенко, Н. Н. Фармацевтическая химия / Н. Н. Глущенко. – М. : Академия, 2004. – 384 с.
3. Логинов, Н. В. Введение в фармацевтическую химию : учебное пособие / Н. В. Логинов. – Минск : БГУ, 2003. – 250 с.
4. Основы аналитической химии. В 2 кн. : учебник для вузов / под ред. Ю. А. Золотова. Кн. 1. – М. : Высшая школа, 2004. – 361 с. Кн. 2. – М. : Высшая школа, 2004. – 503 с.
5. Фармацевтическая химия : учебное пособие / под ред. А. П. Арзамасцева. – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 640 с.

Заведующий издательским отделом
А. В. Андреев

Публикуется в авторской редакции

Подписано в печать 05.12.2013. Формат 60х84 ¹/₁₆. Бумага офсетная. Печать офсетная.
Гарнитура «Times». Усл. печ. л. 9,3. Тираж 100 экз. Заказ № 528.

Налоговая льгота – Общероссийский классификатор продукции ОК 005-93-53000.

Издательство СтГАУ «АГРУС», г. Ставрополь, ул. Пушкина, 15.
Тел/факс (8652) 35-06-94. E-mail: agrus2007@mail.ru.

Отпечатано в типографии издательско-полиграфического комплекса СтГАУ «АГРУС»,
г. Ставрополь, ул. Пушкина, 15.